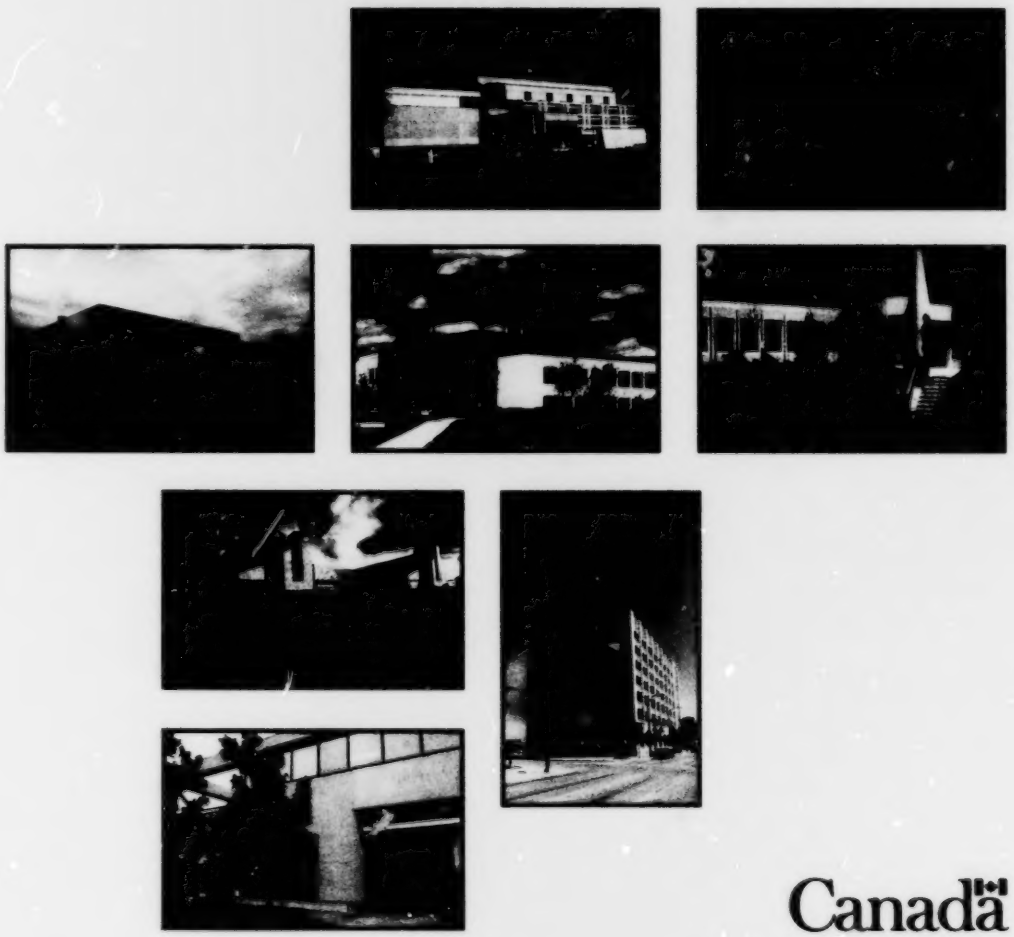
Agriculture
Canada

Animal Pathology Division

Overview 1986



Canada

87-06183/

helping
Canada
grow

1. Animal Disease Research Institute, Nepean, Ontario
2. Animal Pathology Laboratory, Sackville, New Brunswick
3. Animal Pathology Laboratory, St-Hyacinthe, Québec
4. Animal Pathology Laboratory, Guelph, Ontario
5. Animal Pathology Laboratory, Saskatoon, Saskatchewan
6. Animal Disease Research Institute, Lethbridge, Alberta
7. Animal Pathology Laboratory, Winnipeg, Manitoba
8. Animal Pathology Laboratory, Richmond, British Columbia

AGRICULTURE CANADA

ANIMAL PATHOLOGY DIVISION

OVERVIEW

1986

Animal Pathology Division
Halldon House, 4th Floor
2255 Carling Avenue
Ottawa, Ontario
Canada
K1A 0Y9

Tel.: (613) 995-5433

Telex: 053-3283

©Minister of Supply and Services Canada 1987
Cat. No. A61-12/1986 ISBN: 0-662-55355-1
Printed 1987 1.5M–8:87

TABLE OF CONTENTS

FOREWORD / 3

ORGANIZATION CHART / 4

DIAGNOSTIC SERVICES / 5

BIOTECHNOLOGY APPLICATIONS IN THE ANIMAL PATHOLOGY DIVISION / 6

ENZYME IMMUNOASSAY: CURRENT PERSPECTIVE / 6

SAFETY UPDATE / 7

LABORATORIES / 7

- — Animal Pathology Laboratory/Sackville 7
- — Animal Pathology Laboratory/St-Hyacinthe 8
- — Animal Diseases Research Institute/Nepean 8
- — Animal Pathology Laboratory/Guelph 11
- — Animal Pathology Laboratory/Winnipeg 12
- — Animal Pathology Laboratory/Saskatoon 12
- — Animal Diseases Research Institute/Lethbridge 13
- — Animal Pathology Laboratory/Richmond 14
- — Grosse-Île Experimental Station 14

RESEARCH PROJECTS / 15

PATENTS / 29

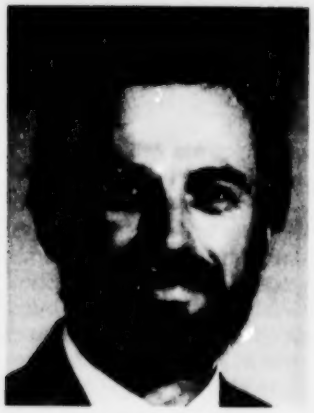
AWARD / 29

EXTERNAL APPOINTMENTS / 30

PUBLICATIONS / 30

TESTS AVAILABLE / 34

TEST ABBREVIATIONS KEY / 39



FOREWORD

This year our Animal Pathology Division Overview has changed to a calendar year, rather than fiscal year format. Although it is less than a year since I last reviewed our situation, there have been numerous changes within the Division, and I am pleased to take this opportunity to document our considerable progress.

Many years of planning and construction at two sites in the Division were completed in 1986. In July, our Guelph staff moved into a new laboratory and at year's end appear to be comfortably settled into this sophisticated, complex facility. The laboratory was built with the future direction of research in mind and provides containment facilities suitable for work on recombinant DNA and highly virulent micro-organisms. In December, staff in St. Hyacinthe occupied a large, new facility which they will be sharing with the Veterinary Inspection Directorate. This building was also designed with an eye to the future and is equipped to grow into a centre for swine research and diagnosis in Quebec.

Plans for the coming year include the occupancy of a new laboratory in Lethbridge, Alberta, scheduled to be completed by the fall 1987. We are currently seeking approval for plans to move our Atlantic laboratory from Sackville, New Brunswick, to a new site near the recently constructed Atlantic Veterinary College, PEI.

Dr. Bob Sellers has been acting Associate Director of Research and his skilled hand at the research helm has been very much appreciated. The Research Management Review conducted the previous year identified the need for more collaborative research with the provinces, universities and industry. One project, which arose as a result of a recommendation from the Expert Committee on Animal Health, is a study to determine the prevalance and economic effect of paratuberculosis in Ontario. We are undertaking this project in cooperation with the Ontario Ministry of Agriculture and Food and the University of Guelph.

In the area of diagnostic services, two projects are ongoing which will take advantage of evolving technology. As I mentioned last year, the Laboratory Sample Control System is a computerized method of tracking sample submissions and results. Though still in a developmental phase, we anticipate that the system will benefit both field operations and policy makers for whom accurate statistics are essential. The other project is the use of an enzyme immunoassay (ELISA) for diagnosing diseases. Each laboratory is equipped to conduct the assay, and brucellosis is being used as a model for familiarization with the exacting technique. ELISA offers advantages because it lends itself to automation and greater quality control and standardization.

A highly successful new technique was introduced at ADRI, Nepean, which allows for a confirmed diagnosis of rabies in four to five days rather than 15-30 days, as in the past. The new rabies tissue culture test also does not require laboratory mice, thus satisfying a goal of the Division to use *in vitro* methods whenever possible.

This year saw the initiation of a serotyping service for non-human isolates of *Salmonella* species at our Animal Pathology Laboratory in Winnipeg. This service is primarily intended to answer the needs of the Food Production and Inspection Branch. The Winnipeg laboratory has also been designated as the centre for processing samples gathered for serosurveillance of various species. Samples are currently being collected for a bovine serum bank and we are storing as many as eight aliquots from each. The serum bank will contain sera from 15 000 animals and will be valuable in statistically valid national and regional surveys.

A new biologics evaluation unit was formed at ADRI, Nepean. The equine and bovine blood typing services has been withdrawn from Agriculture Canada and moved into laboratories selected by the respective industries. This contributed to the governments cost-cutting and privatization initiatives. It offered the additional benefit of giving the industry more direct control over the future of blood typing in Canada.

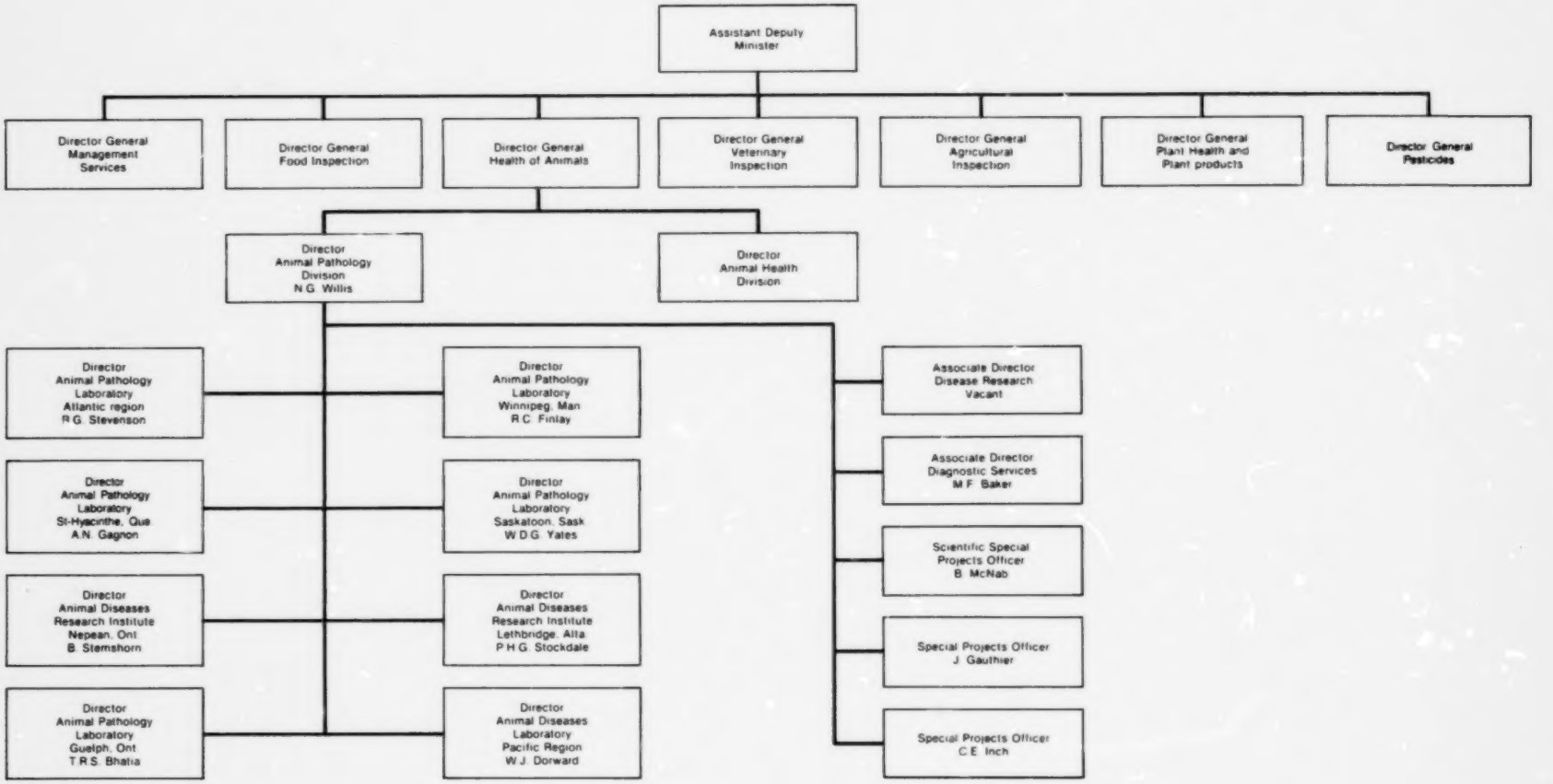
Last spring the Division hosted the 36th Conference of Canadian Laboratory Workers in Animal Diseases and the 39th Canadian Poultry Disease Conference at ADRI, Nepean. The Foreign Animal Disease Course, which we hold annually at the Grosse-Île Experimental Station, was augmented this year by two weeks of lectures at ADRI, Nepean. The course was held in conjunction with the non-resident diploma course of the Western College of Veterinary Medicine.

Our commitment to post-graduate training was rewarded this year: Dr. S. Messier was awarded his PhD; Dr. E. Mann received his MSc. Six members of the Division are currently undertaking post-graduate studies at various institutions.

The Division was highly successful in achieving many of its goals this year, and I would like to congratulate the staff for their commitment and imagination in meeting the challenges before them.

N.G. Willis
Director

FOOD PRODUCTION AND INSPECTION BRANCH



DIAGNOSTIC SERVICES

The eight laboratories of the Division support the National Animal Health and Meat Hygiene Programs by providing diagnostic services in the disciplines of serology, bacteriology, virology, pathology, parasitology and chemistry.

The services provided to the National Animal Health Program include the performance of tests and examinations required to diagnose the indigenous and foreign diseases which are named in the Animal Disease and Protection Act. Among these are diseases for which eradication or control programs exist, such as bovine tuberculosis, trichinosis, rabies, bovine cysticercosis and equine infectious anemia.

Capability to diagnose a variety of foreign animal diseases demands priority attention to safeguard the Canadian livestock population against their introduction. Appropriate tests must be performed on imported animals to ensure that they are negative prior to release from quarantine. As well, disease occurences in Canadian herds or flocks which involve clinical signs resembling an exotic disease must be investigated promptly. In order to provide a definitive diagnosis in such cases, expertise in the latest laboratory detection methods is developed and maintained in a high-security unit of the Animal Diseases Research Institute, located in Hull, Quebec.

During the year, the Canadian livestock industry enjoyed continued success in international markets for live animals, semen and embryos. This generated a substantial workload in laboratories performing the tests needed to meet health certification requirements. Laboratory staff responded exceptionally well to the challenges presented by large, often closely scheduled shipments.

The success in export markets is based to a large degree on the international reputation of the country's livestock population for premium health status. Many economically significant diseases which are prevalent in other countries do not occur, or are under regulatory control in Canada. An ongoing effort is required to provide evidence which will help to maintain this reputation, usually in the form of disease surveillance.

In the case of a recently eradicated disease such as bovine brucellosis, intensive surveillance must be continued for a period, using the tools afforded by epidemiology and modern immunological methods, to confirm that eradication was total and complete. In addition, national surveys are performed regularly to assure continuing freedom from other foreign animal diseases.

This year, for example, the annual national survey for bluetongue demonstrated once again that the country remains free of the disease. In the same vein, a survey for pseudorabies was initiated and, with nearly half of the samples tested by year-end, all results have been negative. This survey is being conducted on aliquots of sera from more than 15 000 swine that were collected and lyophilized during fiscal year 1985-86. The sampling plan was designed with a statistical basis to represent the national herd.

Creation of a similar serum bank for cattle has been started and is scheduled for completion early in the new year. It will consist of eight aliquots of serum from each of at least 15 000 animals selected, once again, to represent the national population. Such serum banks are extremely valuable resources, not only for demonstrating freedom from diseases foreign to Canada, but also for epidemiological studies requiring data on the prevalence or regional distribution of indigenous diseases.

The laboratories also produce many of the biological reagents used in their diagnostic procedures, and those used in the field for the diagnosis of mycobacterial diseases. Another role that they perform is the development of new laboratory methods. Test procedures are constantly being adapted to new technologies, such as the enzyme immunoassays (ELISA). During the past year, for example, an ELISA for antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus was introduced and ELISAs for the serological diagnosis of brucellosis and pseudorabies were implemented for trial periods. The latter two procedures are undergoing further development and will be implemented permanently in the coming year.

In addition, a new test was introduced for the detection of rabies virus, using tissue culture, which shortened the time required for confirmatory testing from 15-30 days to 4-5 days compared with the previous method. It aslo eliminated the use of some 30,000 mice per year and significantly reduced operating costs.

Further advances are anticipated in the near future from the application of biotechnology to biologics production to produce reagents which are more specific and more easily standardized.

Support for the Meat Hygiene Program takes the form of testing for the presence of contaminants and residues in meat and meat products. Five of the laboratories conduct bacteriological testing and one is equipped with the sophisticated equipment required to perform analyses for antibiotics and other chemicals.

Both domestic and imported products are monitored for pathogenic bacteria and chemical residues which may be harmful to consumers. During the year, specific surveys were conducted for *Salmonella* species, *Campylobacter* species, verotoxin-producing *E. coli*, anabolic hormones, carbadox, chloramphenicol, clopidol, heavy metals, ivermectin, polychlorinated biphenyls, pentachlorophenols, pesticides and sulfonamides.

The following table illustrates the volume of services provided during calendar year 1986:

	Number of Tests
Foreign animal diseases (including surveys)	10,447
Brucellosis eradication	1,210,617
Tuberculosis eradication	1,398
Reportable and other diseases of national concern	119,162
Artificial insemination	97,317
Import	37,705
Export	224,651
Meat safety	28,153
Support services	138,321
Biologics production (test doses)	3,958,367

BIOTECHNOLOGY APPLICATIONS IN THE ANIMAL PATHOLOGY DIVISION

The potential in biotechnology has been heralded in every field of biological research. The Animal Disease Research Institute in Nepean and the Animal Pathology Laboratory in Guelph are actively applying these new techniques.

At Nepean, procedures for disease surveillance, diagnosis, and import/export testing are being revolutionized by using biotechnology to develop a new generation of diagnostic tests that are sensitive, specific, cheap, and rugged enough for use in the field. New vaccines, prophylactics, growth promotants and techniques for handling mammalian embryos will provide greater ability to control disease than ever before. Strategies need to be developed for testing and approval of these new products.

Biotechnologies particularly relevant to research at Nepean include recombinant DNA technology to develop nucleic acid probes to detect viruses or bacteria and to engineer new bacteria for antigen production; monoclonal antibody (hybridoma) technology for detection and characterization of viruses and bacteria and for use in immunoassays; micromanipulation of embryos and *in vitro* fertilization for embryo tranfer procedures; and fermentation technology for antigen production. Two post-doctoral fellowship positions are currently enriching their biotechnology research program.

Present studies at Guelph aim to achieve a better understanding of the pathogenesis of salmonellosis and to develop safe and effective *Salmonella* vaccines. Advances in molecular genetics have provided several techniques that facilitated studies in these areas.

Plasmids associated with increased virulence in a number of *Salmonella* serotypes have recently been demonstrated. Studies of these plasmids and the virulence mechanisms they control will help to explain the differences in virulence expressed by certain serotypes and also enhance our understanding of the disease process. Virulence plasmids have been "tagged" with transposon markers to facilitate genetic manipulation and subsequent cloning of the virulence genes.

Live *Salmonella* vaccines provide superior protection when compared with killed vaccines, but problems with stability and virulence have prevented widespread acceptance. A promising approach to this problem is to use transposon mutagenesis techniques to construct strains with precise, non-reverting genetic defects. Mutant strains have been developed that require nutrients not available in animal hosts; therefore, they have a self-limited ability to survive *in vivo*. Preliminary research with these types of vaccines is encouraging and this approach may be applicable to vaccine development for other pathogens.

To optimize the resources and share developments in the field relating to human and animal health care products, the Division, together with Health and Welfare Canada, plays a lead role in Bionet. This is one of several networks established by the Ministry of State for Science and Technology to ensure Canadian participation in the rapidly expanding field of biotechnology.

ENZYME IMMUNOASSAY : CURRENT PERSPECTIVE

Enzyme immunoassays have been the primary focus of research directed toward the improvement of infectious disease diagnostic capabilities in the Animal Pathology Divison. They lend themselves to applications both in the field and in the laboratory, making them perhaps the most versatile of the current generation of primary binding assays. In addition, this type of assay can be developed to meet many requirements concerning diagnostic sensitivity and specificity in the detection of both pathogens and anitbodies produced by exposure to them.

Enzyme immunoassays have been, or are currently being, developed for the serological diagnosis of brucellosis, pseudorabies, paratuberculosis, infectious bovine rhinotracheitis, trichinosis, bluetongue, epizootic haemorrhagic disease of deer, maedi-visna and rinderpest. The first two assays listed are now being introduced into the diagnostic laboratory as official tests. Some of the assays have been adapted to nitrocellulose, a medium which has potential for field use, but most have been developed in a microtitre plate format for laboratory use. Tests for pseudorabies, bluetongue and rinderpest are among those adapted to nitrocellulose. Assays for swine vesicular disease and bluetongue, among others, have been adapted for detection of the pathogen itself.

Monoclonal antibodies have become an integral part of enzyme immunoassay development. Apart from their use as a standard source for anti-species reagents, monoclonal antibodies raised against selected pathogens have permitted the development of highly specific competitive or blocking enzyme immunoassays. This type of assay is especially useful where serological diagnosis is complicated by vaccination, with brucellosis for example.

Enzyme immunoassay technology in combination with monoclonal antibodies is proving to be a powerful and versatile tool in the diagnosis of infectious diseases of veterinary importance.

SAFETY UPDATE

Two events highlighted occupational health and safety in the past year: the proclamation of Bill C34, part IV of the Canada Labour Code; and the Auditor General's report, which criticized the handling, storage and disposal of hazardous and toxic waste by Agriculture Canada.

Part IV of the Canada Labour Code, Occupational Health and Safety, changes our approach to safety in the workplace. The legislation regulates the function of safety committees and representatives, stresses the employee's right to know about all hazards and foreseeable hazards associated with their jobs and clarifies their right to withdraw from work due to danger. For the first time, government employees were included in the Code; Treasury Board guidelines were previously used for occupational health and safety.

The new legislation had less effect within the Animal Pathology Division than in other parts of the department. The Division already has a sound safety program in place. Dr. Robyn McGuire, Division Safety Officer, had addressed the problems so that compliance with the Canada Labour Code was accomplished within a short time.

The main concerns identified by the Auditor General's report were the lack of standard policies and procedures for hazardous waste handling, storage and disposal as well as the activities of the Joint Occupational Health and Safety (JOSH) committees. Several task forces were struck to deal with these various concern. The individual facilities in the Division have established, or are now establishing, protocols for hazardous waste management. The recommendations from the task forces will help by supplying the criteria on which to base these protocols.

Two new laboratory facilities, which required the involvement of Dr. McGuire, were completed this year. The input of a safety officer in the projects from the planning phase has helped identify safety problems in the operation of the laboratories and the containment suites. This has enabled staff to develop working safety protocols for these facilities based on their design and operation.

A cornerstone of any safety program is education. This year, a representative from each of the laboratories attended a course on biosafety given by Health and Welfare Canada. In November, Dr. McGuire gave a two-day course in biosafety at ADRI, Nepean, which was very well attended by Divisional personnel as well as outside parties. It is hoped that this course can be used as a basis for a biosafety course that will be available throughout the Division.

The presence of a full-time safety officer in the Division has resulted in a more consistent standard of laboratory safety. The JOSH committees have been strengthened and protocols standardized. Education has led to the recognition at all levels that safety is important to management as well as employees. This awareness places the Division in an enviable position regarding occupational health and safety. The Animal Pathology Safety Manual is expected to be completed soon, and through Health and Welfare, standard occupational health monitoring will be instituted for all staff.

LABORATORIES

ANIMAL PATHOLOGY LABORATORY

P.O. Box 1410
10 Salem Street
Sackville, N.B.
E0A 3C0
Tel.: (506) 536-0135

The laboratory is located on the campus of Mount Allison University. It opened in 1948 as a general diagnostic laboratory to serve the Atlantic region. In its early years, the primary concern was the serological diagnosis of brucellosis. In subsequent years, the disciplines of bacteriology, parasitology, pathology and virology were added. The laboratory, and nearby farm premises where experimental animals are maintained, has a staff of 18.

The laboratory is divided into three main sections: parasitology, virology and diagnostic pathology/bacteriology. Each section is responsible for diagnostic and research programs. Research is carried out on sheep and primary research effort is on the pathogenesis of subacute ovine pneumonia involving *Mycoplasma ovipneumoniae*, *Parainfluenza - 3 virus* and *Pasteurella haemolytica* toxins.

The parasitology section is primarily involved in research, but also provides a reference service to Atlantic area provincial veterinary laboratories. A diagnostic service is provided for federal programs such as trichinosis, cysticercosis, mange and trichomoniasis. Current research involves the

Embedding lamb lung to microscopically study the pathogenesis of experimental proliferative interstitial pneumonia.

epizootiology of trichinosis in Canada and the development of the enzyme immunoassay (ELISA) test. Both *Trichina spiralis spiralis* and *T. spiralis nativa* are being studied. In addition, the section is investigating parasitism in sheep in the Atlantic provinces.

The virology section provides an extensive diagnostic service for producers in the Atlantic area in addition to its diagnostic responsibilities for federal programs such as EIA (Coggins testing) and testing of semen for export. Research is directed towards sheep and goat diseases, especially in the retroviruses Maedi-Visna and caprine arthritis-encephalitis. An ELISA test is being developed for Maedi-Visna.

The diagnostic pathology/bacteriology section provides a diagnostic service for meat safety programs, sheep and goat producers, testing for export and consultation for the fur-bearing animal industry. Bacteriology is responsible for microbiological testing of meat and meat by-products; livestock products including semen for artificial insemination programs and export as well as serological testing for the *Brucella* eradication program. Histopathology provides a diagnostic service for meat safety programs, support services and carries out cooperative research with other sections.

PROFESSIONAL STAFF

R.G. Stevenson	DVM, DVSM, PhD	Director
H.J. Smith	BSc (Agr), DVM, MVSc	Parasitology
G.G. Finley	DVM, DDP	Pathology
C. Simard	DMV, MSc	Virology
J. Lopez	MVZ, MSc, PhD	Bacteriology

ANIMAL PATHOLOGY LABORATORY

3400 Casavant Blvd.
St. Hyacinthe, Quebec
J2S 7S4
Tel.: (514) 773-7730

The St. Hyacinthe laboratory is in the heart of one of the most prosperous farming areas in Quebec. It has recently moved to an ultra-modern building located on the St. Hyacinthe Agri-Food High Technology Campus next to the new Agri-Food Centre of the Research Branch of Agriculture Canada and the School of Veterinary Medicine of the University of Montreal.

Among other things, the laboratory carries out laboratory tests as part of the bovine brucellosis eradication program. A total of 400 000 milk and blood samples are tested annually. The laboratory is now working with the other division laboratories on the development of an enzyme immunoassay for the detection of brucellosis.

As part of the meat safety program, the laboratory carries out microbiological tests on raw and processed meats. Microbial agents that can represent a major risk to public health (such as *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Campylobacter jejuni*, E. Coli 0157:H7 and others) are isolated, and bacteria in meat product samples are counted. A pathology advisory service is also provided to support inspectors in abattoirs. Finally, the laboratory conducts disease diagnosis and detection tests under the national health program, in conjunction with the Quebec Artificial Insemination Centre, to meet certain export requirements for bovine semen and embryo transplants.

PROFESSIONAL STAFF

A.N. Gagnon	DMV, MSc	Director
S.P. Carrier	DMV, MSc	Serology
Y. Robinson	DMV, Dipl LA, MSc, IPSAV	Meat Safety
S. Messier	DMV, MSc, PhD	Bacteriology

ANIMAL DISEASES RESEARCH INSTITUTE

801 Fallowfield Road
Box 11300, Postal Station H
Nepean, Ontario
K2H 8P9
Tel.: (613) 998-9320
Telex: 053-4349
and
100 Gamelin Boulevard
Hull, Quebec
J8Y 1V9
Tel.: (613) 997-3303

This institute provides essential expertise on selected livestock and poultry diseases that are foreign to Canada, transmissible from animals to man, or are of particular importance as non-tariff barriers to international trade. It also produces biological reagents used by other laboratories of the Animal Pathology Division as well as Agriculture Canada's Field staff. A new program for the evaluation of veterinary biologics was introduced in 1986.

FOREIGN ANIMAL DISEASES

In 1986, the institute hosted an expanded classroom portion of the annual Exotic Diseases Course, presented this year in collaboration with the University of Saskatchewan. This lecture series at Nepean was followed by the traditional course on Grosse-Île, Quebec.

In support of increased field surveillance activities, the Hull laboratory examined more samples to rule out vesicular and other foreign animal viral diseases.

Under the methods development program, an enzyme immunoassay (ELISA) for antibodies against pseudorabies virus (PRV) was adapted for a survey of the Canadian swine for this disease. Work began on a similar procedure for the detection of antibody to bluetongue virus (BTV).

Biotechnology applications included the production of monoclonal antibodies against BTV, diagnostic applications of a nucleic acid probe for PRV and progress in analysis of the genome of EHD virus.

The institute initiated the production of *Anaplasma marginale* antigen to provide a Canadian source of diagnostic reagents and material required for work to improve the serological diagnosis of anaplasmosis.

RABIES

The institute processed a record number of rabies submissions in 1986. On June 1, the rabies unit officially adopted a new tissue culture method to replace the mouse inoculation test for rabies diagnosis. This method produces results in four to five days, instead of 15-30 days, and annually saves $35 000 — $40 000, including approximately 30 000 mice.

Trials with a recombinant vaccinia virus carrying rabies glycoprotein produced the first successful immunization of skunks by oral administration of a rabies vaccine.

Studies confirmed that spongiform lesions (Figure 1) are associated with rabies infection and described their nature and distribution in the central nervous system.

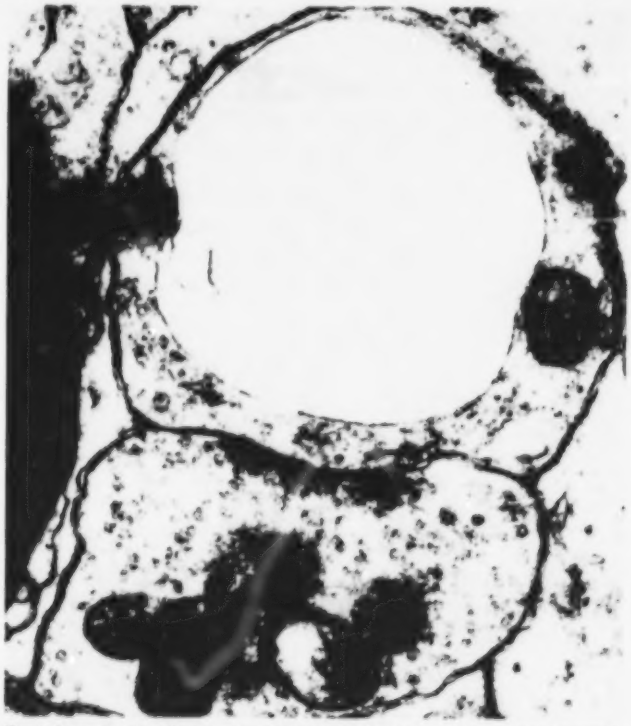
BRUCELLOSIS

The institute played a lead role in assisting other Division laboratories to implement a standardized enzyme immunoassay for bovine brucellosis. This carefully controlled procedure will serve as a basis for a wide variety of future applications of this technique. The assay uses monoclonal anti-immunoglobulin antibodies to facilitate standardization.

Through continuing cooperation with the National Research Council of Canada, characterization of the diagnostically essential O-chain carbohydrate antigens of *Brucella* lipopolysaccharides was extended to demonstrate biochemical differences between the *abortus* (A) and *melitensis* (M) antigens described in the classic 1932 studies of Miles and Pirie (Figure 2). Further, biochemical analysis of 'Poly B' demonstrated that purified O-chain is the antigenically active component of these preparations which can be used in immunodiffusion or ELISA methods to distinguish between brucellosis-vaccinated and infected cattle.

Brucella abortus was shown to be able to receive, maintain and transfer plasmids by conjugation, thus demonstating the potential use of plasmids in combination with cloning techniques for genetic engineering of brucellae.

FIGURE 1



Brain from skunk with experimental rabies. Electron micrograph of a small membrane-bound vacuole in a dendrite of a neuron. Note adjacent axon terminal containing vesicles of neurotransmitter.
(This figure published in Acta Neuropathologica: 63:198-202, 1984)

TUBERCULOSIS

The institute completed its participation in an international comparison of bovine PPDs organized by the Central Veterinary Laboratory, Weybridge, U.K.

LIVESTOCK IMPORT AND EXPORT

Several protocol modifications were made to prevent contanimation by BVD virus of fetal calf serum and kidney cell lines used for trade certification and other test purposes.

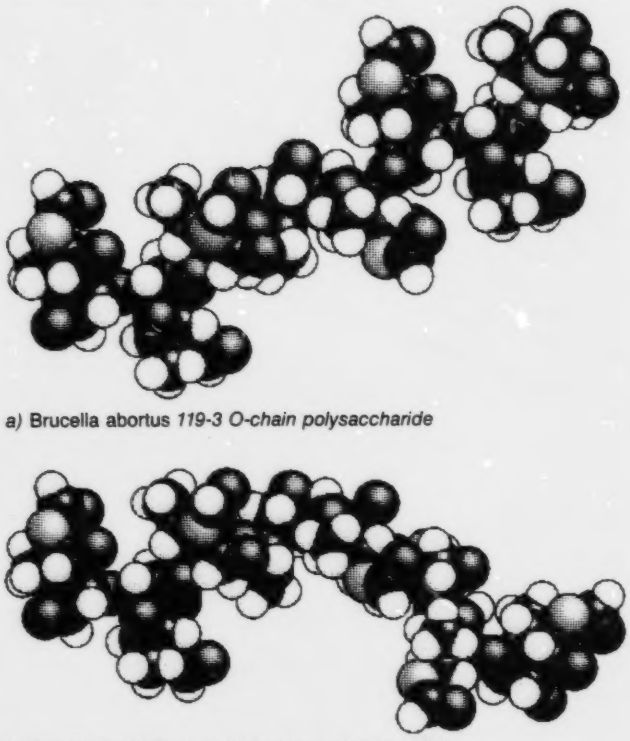
Work on disease transmission by early livestock embryos was extended and, with work done elsewhere, has begun to influence the requirements for the health certification of embryos moving internationally.

OTHER DISEASES

A patent application has been filed for a technique for production of equine infectious anemia (and other retroviral) antigens in continuously infected cell lines. Licensed tranfer of the technology to a Canadian company is under way.

Studies on paratuberculosis of cattle and small ruminants have improved bacteriological and serological methods. It was confirmed that centrifugation of fecal samples improves the sensitivity of culture methods. A lipoarabinomannan

FIGURE 2



a) Brucella abortus *119-3 O-chain polysaccharide*

b) Brucella melitensis *16 M O-chain polysaccharide*

(Figures courtesy of D.R. Bundle and M.B. Perry of National Research Council of Canada, Ottawa)

antigen will be used to increase the sensitivity of an upcoming serological survey of Ontario Cattle. Monoclonal antibodies have been produced against *Mycobacterium paratuberculosis* with a view to improved detection of this organism.

A method of coating plastic culture vessels was found to greatly enhance the growth of chicken kidney cells used for the cultivation of avian viruses.

BIOLOGICS EVALUATION

A new Biologics Evaluation Section was created to provide laboratory monitoring of a manufacturers' quality assurance programs which ensure that purity, potency, safety and efficacy standards are being met. Five of an eventual staff of seven were on the job by December, and test procedures were being established.

BLOOD TYPING

Equine and bovine blood typing services were tranferred to private laboratories.

PROFESSIONAL STAFF

B.W. Stemshorn	BSc, DMV, PhD	Director
Laboratory Operations		
J.A.J. Carrière	BA, DMV	Head
J. Knowlton	DVM	Acting Diagnostic Coordinator
Vacant		Staff Veterinarian
Immunology		
E.A. Sugden	BSc, PhD	Head
J.Cherwonogrodzky	BSc, MSc, PhD	
J.R. Duncan	BSA, DVM, MSc, PhD, ACVP	
K. Nielsen	BSc, MSc, PhD	
Microbiology Research		
J.L. Spencer	DVM, MS, PhD,	Head
B.W. Brooks	BSc (Agr), MSc, PhD,	
S. Chen	DVM, MS	Avian Diseases
A.D.E. Fraser	BSc (Hon), MSc, PhD	
M.M. Garcia	BSA (Hon), MSc, PhD	
C.E. Rigby	BSc, MSc, PhD	
M.L. Cerqueira-Campos	BMV, PhD	NSERC Fellowship
Microbiology Service		
J.B. Stevens	BSc, DVM, MSc, PhD	Head
K.L. Malkin	BVSc, Dipl Vet PM	
R.B. Stewart	BSc (Hon)	
C. Turcotte	DMV, MSc	
Pathology		
K.M. Charlton	DVM, PhD, ACVP	Head
A. Bundza	DVM, Dipl Clin Path	
G.A. Casey	BSc	
T.W. Dukes	DVM, MS	
F. Gilka	Med Vet, MVDr, CSc, PhD, ACVP	
K.M. Johnston	DVM, MVSc	
N.D. Tolson	PhD	OMNR Fellow
W.A. Webster	BSc	
Reproduction		
W.C.D. Hare	MA (hc), BSc, PhD DVM&S, FRCVS	Head
A. Bielanski	PhD, DVM, Dr Habilit VM	
A.M.P. Bouillant	DMV, MS, PhD	
M.D. Eaglesome	BVMS, MRCVS	
E.L. Singh	BSc, MSc	
G.C.B. Randall	BVSc, PhD, MRCVS	
Serology		
P.F. Wright	BSc, MSc, PhD	Head
W. Kelly	BSc (Hon)	
G.J. Kraay	BSc, MSc, PhD	
F.J. Robertson	BSc (Agr), DTA, BVMS, MRCVS	
J. Shapiro	DVM, Dipl Path	
P.T. Shettigara	BVSc, MSc, PhD, DVM, DTVM, DECH, MRCVS	

Veterinary Biologics Evaluation		
F.C. Thomas	DVM, PhD	Acting Head
R.P. Lacroix	BSc, MSc	
G.M. Ruckerbauer	BA, MA, DVM	
J. Smith	BSc	
Virology		
P.R. Ide	DVM, MSc, PhD	Head
A. Afshar	DVM, PhD	
A. Bouffard	DMV, MSc, PhD	
C. Dubuc	DMV, MSc,	
G.C. Dulac	DMV, MSc, PhD	
D.J. Myers	DVM, MSc	

ANIMAL PATHOLOGY LABORATORY
110 Stone Road West
Guelph, Ontario
N1G 3W4
Tel.: (519) 822-3300

The laboratory is situated in new facilities in the University of Guelph Techno Business Park. The laboratory staff of 25 provides diagnostic services and conducts research to support the Canadian livestock and poultry industry. Specialized facilities are available for research in microbiology and biotechnology, including containment areas for work with virulent pathogens.

Diagnostic services support Agriculture Canada's national animal disease program by testing for brucellosis, equine infectious anemia and *Campylobacter spp*. In addition, testing is conducted to assure that Canadian livestock and livestock products meet the health requirements of importing countries before leaving Canada.

The meat safety unit conducts bacteriological examinations of both fresh and processed meat products and uses immunological methods to verify species of origin of raw meat samples. The unit also provides in-plant investigation services to support the functions of federal meat hygiene programs in abattoirs and processing plants.

Meat safety research is directed toward the testing and development of methods to reduce the time required to determine the presence of significant bacteria and adulterating substances in foods. Current studies are concerned with latex agglutination tests for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, detection systems for the presence of *Salmonella*, verotoxic *E. coli* and other organisms associated with foodborne diseases.

Research is also carried out to obtain a better understanding of the pathogenic mechanisms which play a role in bovine and avian salmonellosis. Studies include the investigation of the relationships of plasmids to virulence of *Salmonella*, investigations of toxin production of avian isolates of *Salmonella* and the genetic manipulation of *Salmonella* strains to develop effective vaccines. The Guelph laboratory is also the repository for non-human *Salmonella* strains isolated by the Animal Pathology Division.

Scanning electron micrograph of the ileum of a calf 12 hours after oral infection with Salmonella typhimurium. *(R. Clarke)*

PROFESSIONAL STAFF

T.R.S. Bhatia	BVSc & AH, MSc, MRCVS	Director
Diagnostic Services		
P.J. Cairns	DVM	Infectious Diseases
A.M. Lammerding	BSc (Agr), MSc	Meat Safety
S. Read	DVM	Meat Safety
Research		
R.C. Clarke	BSc, DVM, PhD	Bacteriology
N.M. Harnett	BA, MSc, PhD	Bacteriology
C. Poppe	DVM, MSc, Dipl VP	Bacteriology
R.B. Truscott	BSA, DVM, MSA, PhD	Bacteriology
W.B. McNab	DVM	Epidemiology Trainee

ANIMAL PATHOLOGY LABORATORY
269 Main Street
Room 408, Federal Building
Winnipeg, Manitoba
R3C 1B2
Tel.: (204) 983-2205
Telex: 075-5922

Laboratory activities are primarily diagnostic and support Agriculture Canada's national animal disease program such as those for bruceilosis, tuberculosis and equine infectious anemia.

Testing procedures also support meat safety programs by regularly examining meat and meat products to assure proper processing and sterility and by participating in national survey programs. Microbiological testing provides support for the hatchery industry as well.

A national bovine serosurveillance program is under way to create a serum bank: 15 000 samples will be aliquoted, lyophilized and placed in inventory for future testing and epidemiological investigations.

ELISA testing equipment is now in place and has been used as the confirmatory test in bovine brucellosis. This method has been used to test porcine serum survey samples for pseudorabies.

The laboratory provides serotyping service on non-human *Salmonella* isolates from other food production and inspection laboratories as well as divisional laboratories.

PROFESSIONAL STAFF

R.C. Finlay	DVM	Director and Serology
E.D. Mann	DVM, MSc	Microbiology

ANIMAL PATHOLOGY LABORATORY
116 Veterinary Road
Saskatoon, Saskatchewan
S7N 2R3
Tel.: (306) 975-4071
Telex: 074-2471

This facility contains specialized biocontainment and analytical chemistry laboratories. It emphasizes the testing of food products of animal origin for chemical residues. The laboratory also specializes in diagnosis and research in *Brucella* and in wildlife disease research that relates to the disease eradication and control programs of the branch.

The Chemical Residue Analysis Section was established in 1981 to consolidate and expand national testing programs for chemical residues in meat and meat products. Many analytical methods are used to detect residues of veterinary drugs and industrial contaminants in animal tissues.

The Infectious Diseases Section specializes in the bacteriological, serological, and pathological diagnosis of brucellosis and other diseases of concern in domestic animals and wildlife, some of which are zoonoses. This laboratory is a national reference center for *Brucella* culture and biotyping.

During the past year researchers introduced new test methods for tetracyclines and dimetridazole. A substantial increase in testing was absorbed for antibiotic residues in meat. Withdrawal periods for chloramphenicol in calves were examined and illegal use of trembolone acetate in veal calves was confirmed followed by the provision of standards and methodology to private sector laboratories. Processing techniques for the isolation of *Brucella abortus* from infected tissues were evaluated and a procedure using homogenization and high-speed centrifugation was found to be a significant improvement over current methods. Knowledge gained about brucellosis and tuberculosis in the bison of Wood Buffalo National Park was used extensively in discussions about possible solutions to these problems and their implications for the cattle industry. A new feature entitled the

Cross Canada Disease Report, was introduced for the Canadian Veterinary Journal. Its purpose is to inform veterinarians and others about regional similarities and differences in animal diseases.

PROFESSIONAL STAFF

W.D.G. Yates	DVM, PhD	Director
Infectious Diseases Section		
L.B. Forbes	DVM, MSc	Laboratory Services
D.L. Hutchings	DVM, Dipl VPM	Immunology Trainee
S.V. Tessaro	BSc, MSc, DVM	Wildlife Diseases
Chemical Residue Analysis Section		
J.D. MacNeil	BSc, MSc, PhD	Head
J.O.K. Boison	BSc, MSc, PhD	Methods Research and Development
A.C. Fesser	BSc, MSc	Laboratory Services
G.O.Korsrud	BSc, MSc, PhD	Methods Research and Development
V. Martz	BSc	Quality Assurance — Safety Officer
J.R. Patterson	BSc, BEd, MSc	Senior Chemist
C.D.C. Salisbury	BSc	Laboratory Services

ANIMAL DISEASES RESEARCH INSTITUTE

P.O. Box 640
Lethbridge, Alberta
T1J 3Z4
Tel.: (403) 381-8182
Telex: 038-56713

ADRI Lethbridge provides veterinary diagnostic services to support federal disease control and certification programs and conducts research into infectious diseases of beef cattle that are of economic concern to the Canadian beef industry.

The professional staff work in the disciplines of bacteriology, immunology, pathology, virology, and clinical research. About 40 support staff provide administravtive, technical and farm help.

The main fields of research are bovine respiratory disease, bovine leptospirosis, bovine viral diarrhea, and infectious bovine rhinotracheitis. The institute has an associated farm of approximately 1 000 hectares and is developing a herd of commercial cross-bred cattle that are free of the viruses of infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhea. These cattle will provide experimental animals.

The institute was founded approximately 80 years ago and charged with the investiagtion of dourine in horses. A new laboratory building, begun in February 1985, is scheduled to be completed by fall 1987. This new facility is designed with the application of the newer techniques of molecular biology to infectious disease of animals in mind. It is hoped that a reorganization of the staff at ADRI will be completed to coincide with the occupation of the new laboratory. This will result in a consolidation into three sections: immunology, microbiology, and pathology and clinical research.

In the last year the institute has gained Drs. W. Lee and K. Loewen and will acquire Drs. V. Gannon and W. Olson next year.

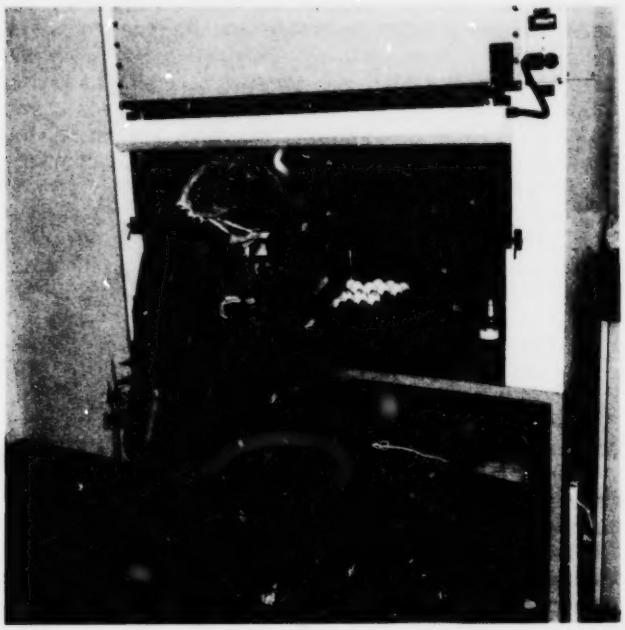
The staff hopes that in the coming year they will start up the new laboratory and bring its new facilities to bear on their diagnostic and reseach programs.

PROFESSIONAL STAFF

P.H.G. Stockdale	B Vet Med, MSc PhD, MRCVS	Director
Immunology		
H.J. Cho	DVM, MSc, PhD	
L. Nillo	DVM, MSc	
Microbiology		
J.J. Bohac	VMD, PhD	
S.P. Gale	DVM	
V.P.J. Gannon	BSc, MSc, DVM	
K.G. Loewen	DVM, MSc	
Pathology and Clinical Research		
K.W.F. Jericho	DVM, PhD	
V.W. Lees	DVM	
W.O. Olson	DVM, MSc	

ANIMAL PATHOLOGY LABORATORY

13-3071 No. 5 Road
Richmond, British Columbia
V6X 2T4
Tel.: (604) 273-2713
Telex: 045-08658



The Pacific Area Animal Pathology Laboratory is one of the original four pathology laboratories established at the turn of the century. Today, laboratory activities at Richmond are directed primarily toward diagnostic services to support the national animal disease program of Agriculture Canada. Services are provided in microbiology and serology.

Microbiology facilities are designed to maintain containment of exotic and hazardous agents such as *Brucella* and Newcastle Disease virus. General microbiological facilities are also available for procedures such as those required for a meat hygiene programs and survey samples.

Serological testing is done for a variety of diseases and includes a computer controlled reader for enzyme immunoassay for *Brucella*.

Scientific staff are also being trained at the post-graduate level in fish pathology so the Division will be prepared to handle any potential disease problems in the emerging West Coast aquaculture industry.

PROFESSIONAL STAFF

Wm. J. Dorward	BSc, DVM, VS	Director
A.C. MacNeill	DVM, VS	Diagnostic Services
R.D. Armstrong	DVM	Pathology Trainee

GROSSE-ÎLE EXPERIMENTAL STATION

Grosse-Île, located on the St. Lawrence River, has been administered by the Division for a few years.

Animal quarantine facilities on the island are kept in a state of readiness in the event that live imported animals require their use.

Every year, in May, a course on animal exotic diseases is held at the maximum security laboratory for federal veterinarians. Livestock diseases foreign to Canada, but which could be introduced, are demonstrated *in vivo*. The orchestration of the course is complex; the animals are inoculated with various strains of diseases and are expected to display characteristic disease symptoms well spaced throughout the 10-day time frame of the course. Experts from across the country and around the world lecture on the various diseases to support the live animal demonstrations. Funding of the course is provided by the Training and Resource Management Division of the Veterinary Inspection Directorate in recognition of the importance of training our veterinarians who are our first line of defense against foreign livestock diseases.

Officer in charge: François Duchaine

RESEARCH PROJECTS

Research in animal pathology includes long, medium- and short-term research, diagnostic development and technology transfer. Researchers fulfil many roles. On the one hand they are the customers of basic and applied research being carried out in Canada and abroad. They obtain knowledge of such research through the scientific literature, scientific meetings and personal contacts. This information is added to the researcher's own ideas and research, and distilled into results, which enables the researcher to provide for the present or future needs of the customers. Some researchers prefer to work on the basic aspects, others on applied, but in all instances greater success is obtained by asking the fundamental questions rather than providing *ad hoc* answers.

The 1986 Overview details the achievements of various research projects. During 1986 three research projects (8521 and 8523 on brucellosis and 8530 on perinatal mortality) have undergone review by outside scientists and by clients. All three were commended for their high quality, and the future direction of the research on these projects has benefited from the advice of the review committees. In addition, individual institutes and laboratories have conducted internal reviews of their own projects.

Within the animal pathology program there is much collaboration on research, both inside Agriculture Canada and with universities, research institutions, industrial firms and overseas laboratories. This contributes to the advancement of the programs and also indicates the esteem outside bodies have for the research carried on within the Animal Pathology Division. During the coming year these activities will be extended to make the best use of the scientific resources and facilities of the Division.

I Foreign Animal Diseases

8507 Embryo transfer as a means of controlling disease.

Location: ADRI Nepean.

Objectives:
To determine the disease transmission potential of early farm embryos and to develop methodology for handling and treating embryos that will remove or reduce the risk of their spreading disease. The anticipated outcome of this work will be the acquisition of germ plasm with little or no risk of acquiring diseases.

Achievements:
1. Determined that embryos collected from FMDV-infected cattle do not transmit the disease when they are tranferred to uninfected recipients.
2. Determined that pigs infected with FMDV do not excrete this virus into the reproductive tract. Thus, uninfected embryos can be obtained from pigs infected with FMDV.
3. Determined that embryos can be collected from pigs infected with hog cholera virus and transferred to uninfected recipients without disease transmission.
4. Determined that cryopreservation is an effective means of enhancing the sanitary status of embryos: a 44% reduction in the amount of IBRV that could be isolated from bovine embryos occurred after freezing.

Scientists: L. Singh, F.C. Thomas, G. Dulac, W.C.D. Hare

8528 Orbiviruses of animals (bluetongue, African horsesickness, epizootic hemorrhagic disease).

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To collect orbivirus, produce reagents, compare antigens, and develop and evaluate diagnostic tests.

Achievements:
Bluetongue virus (BTV) serotypes No. 21 and 22 were obtained, cloned by plaquing and reference stocks made. Testing of 141 mule deer and 72 elk from Western Canada by plaque neutralization yeilded no reactors to BTV or epizootic hemorrhagic disease virus (EHDV). Field samples from Ontario cattle involved in abortion or neonatal disease were tested for BTV and EHDV; none of the 20 animals reacted to either one. A protocol for the production of purified BTV cores was developed and used. Collaborative work with Dr. Lis of the Canadian Wildlife Service and his subcontract with Professor D. Brown of the University of Ottawa resulted in production of BTV reactive monoclonal antibody from bands of BTV proteins electroblotted onto cellulose initiate paper after polyacrylamide gel electrophoresis separation.

Scientist: F.C. Thomas

8572 The application of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibodies against animal viruses.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To develop an ELISA to detect antibodies to pseudorabies, bluetongue, epizootic hemorrhagic disease of deer (EHD) rinderpest and vesicular stomatitis viruses in animal sera.

Achievements:
An indirect ELISA for the detection and quantitation of porcine antibody to pseudorabies virus (PRV) and the standard serum neutralization (SN) test were compared on 304 sera from pseudorabies free pigs in Canada, and 1 082 and 580 field sera from swine from the USA and England, respectively. The sensitivity and specificity of the ELISA test relative to the SN test were in the order of 97 to 98% with a higher agreement between the tests when a 1:40 dilution of serum sample was used for the ELISA. A slight difference of the ELISA was demonstrated using gamma-irradiated PRV and control antigens versus non-irradiated antigens when the test was applied to 275 field sera. The indirect ELISA is a rapid and convenient procedure and is currently being used in a national survey.

A modified solid-phase ELISA (dot-ELISA) was developed for the visual detection of antibody to PRV in porcine serum. This dot-ELISA was compared with the SN test and the standard ELISA in 856 field sera. The relative sensitivity and specificity of the dot-ELISA were in the order of 98% to 99%. The dot-ELISA could have application as a rapid and economical field test in the diagnosis of PRV infection.

An indirect ELISA and a competitive (C) ELISA, using a group-specific monoclonal antibody (from AVRI, Pirbright) were developed for detection of antibodies to bluetongue virus (BTV) in cattle and sheep sera. The performance of these assays in detecting anti-BTV antibody in sequential serum samples and eluates from whole blood, dried on filter paper, from three calves and four sheep experimentally

infected with type 10 BTV was evaluated. While both ELISAs proved reliable, the C-ELISA was always as sensitive or more sensitive than the standard agar gel immunodiffusion (AGID), modified complement fixation and plaque neutralization tests in the detection of anti-BTV antibodies. Unlike the AGID, no cross-reaction was observed between BTV antigen and bovine anti-EHD virus antibody in either ELISA test.

A modification of the blocking (B) ELISA, using a monoclonal antibody (McAb) against the group-specific BTV antigen was developed as a simple and rapid test for serodiagnosis of bluetongue. BTV antigen is absorbed to nitrocellulose paper as dots, reacted with test serum then with the McAb and finally with an enzyme conjugated anti-mouse immunoglobulin. The performance of the B-dot-ELISA was evaluated by testing sera from experimentally and naturally infected sheep and cattle. The B-dot-ELISA was superior to the AGID test in detecting anti-BTV antibodies earlier after exposure and more positives among 65 bovine and 24 ovine sera collected from herds in the USA. The B-dot-ELISA has potential application as a rapid, simple and economical field test in diagnosis of bluetongue and related seroepidemiological studies.

An indirect ELISA was developed for detection of EHD virus antibodies in bovine sera.

An indirect dot-ELISA was developed for visual detection of anti-rinderpest virus (RPV) antibodies in cattle and goat sera. This dot-ELISA was comparable to the SN test in its ability to detect antibody in cattle and goats experimentally infected with live attenuated Kabete 'O' strain of RPV.

An indirect ELISA, using VP73 antigen obtained from a commercial source, was developed for detection of porcine antibody to African swine fever virus (ASFV). The performance of ELISA was comparable with the standard indirect immunofluorescence test in detecting anti-ASFV antibody in sera from experimentally infected pigs. The test proved to be specific when 400 sera from ASF free pigs in Canada were used.

Scientists: A. Afshar, G.C. Dulac, P.F. Wright, F.C. Thomas, C. Dubuc.

8574 Electron microscopy in the rapid diagnosis of foreign animal virus diseases.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To develop methods for the direct electron microscopic (EM) examination of specimens for the rapid diagnosis of foreign animal diseases.

Achievements:

The airfuge (Beckma) was used to deposit viruses from cell culture and tissue/secretion origin onto electron microscope grids in the EM-90 rotor using g forces from 20 000 to 90 000. By changing grids at successively higher g forces (10-minute runs), different particle sizes including debris were accumulated onto the grids. Depending on the virus, g forces in the 30 000 to 60 000 range appeared to be the most useful for rapid identification.

The Protein-A-Gold technique was used to label and rapidly identify vesicular stomatitis virus and swine vesicular disease viruse from both cell culture and "vesicle scraping" tissue specimens.

The use of the electron microscope in the rapid diagnosis of foreign animal diseases demonstrated savings in time and resources.

Scientist: F.C. Thomas

8575 Application of direct and indirect immunofluorescence to the detection of antigens and antibodies to foreign and indigenous viral diseases.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To evaluate immunofluorescent reagents as a rapid means of virological and serological diagnosis for foreign animal diseases.

Achievements:

Four serological tests, the ELISA, indirect immunofluorescence (IIF), agar gel immunodiffusion (AGID) and complement fixation (CF) were evaluated on two proficiency panels of sera. One panel was prepared from sera harvested late in the infection (from Plum Island, USA); another was made of sera collected earlier at ADRI. Antibody profiles were also established on the sera of six pigs infected experimentally with a chronic strain of African swine fever (ASF). With the early and late sera, the sensitivity and specificity of the IIF and ELISA was close to 100%. With the early sera, the sensitivity of the CF was 80% and the specificity 100%. The sensitivity of the CF declined to 25% with late sera while the specificity was 83%. For the AGID test the sensitivity was 70.8% while the specificity remained 100% with the late sera. Early sera were not tested by the AGID test.

In the profile, antibodies were detected at 14 days with the IIF and ELISA and were still present at a high level after 460 days. At that time, antibodies were no longer detectable by CF and AGID tests.

False positive reactions were detected against ASF in normal pig sera (3/10) irradiated with gamma rays. Positive sera remained positive by IIF though the titers decreased.

Indirect immunofluorescence as a means of detecting antibodies to hog cholera was evaluated on serial bleedings from five pigs infected experimentally. The IIF test detected antibodies as early as the existing fluorescent focus inhibition assay. High-level antibodies persisted throughout the experiment, which was terminated on day 150. The test is not dependent upon the availability of live cells and produces a result within four hours, compared with 48 hours required with the fluorescent focus inhibition.

The hog cholera immunofluorescent conjugate was absorbed with porcine and bovine lymph nodes homogenates. This procedure removed the non-specific staining observed previously in swine tissues and made the conjugate usable in cryostat sections of tissues.

Two of the 12 monoclonal antibodies developed against bluetongue virus at ADRI were found by means of indirect immunofluorescence, using a commercial rabbit anti-mouse to be specific for bluetongue antigen type II and did not cross-react with EHD type I. A polyclonal bovine anti-bluetongue sera with a commercial rabbit antibovine fluoresceine isothiocyanate conjugate was also used successfully to detect bluetongue antigen.

The method is intended to identify bluetongue virus from field specimens directly in cell culture or following one passage in embryonated eggs.

Scientists: G.C. Dulac, D. Myers, A. Bouffard, A. Afshar, P.T. Shettigara.

8576 Gamma irradiation of foreign animal disease viruses and their antigens.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To develop methods of treating biologicals and viral preparations with gamma rays to ensure inactivation of pathogens, yet preserve desired biological efficacy.

Achievements:

Lyophilization had considerable effect on virus killing by gamma irradiation when compared with the liquid state. Lyophilization had a protective effect on pseudorabies and hog cholera viruses, no effect on swine vesicular disease virus, and made African swine fever virus more sentitive to irradiation.

Irradiation at virus killing doses (i.e., 4 Mrad) did not affect the indirect immunofluorescence (IIF) on glass of pseudorabies, African swine fever, or swine vesicular disease viruses, but at low doses (0.5 Mrad) completely destroyed hog cholera IIF.

Protocols were developed for the irradiation of antigens prepared in the high-security laboratory for use outside that facility.

A protocol for the irradiation of fetal bovine serum for use in cell culture designed as a further safeguard against BVD virus contanimation was developed based on data generated for BVDV in serum.

Scientists: F.C. Thomas, A. Bouffard, G.C. Dulac, D.J. Myers.

8599 ELISA for the detection of swine vesicular disease antigen.

Location: ADRI, Nepean.

Objective:
To develop an ELISA for the detection of SVD antigens in cell culture and in animal tissues for diagnosis of vesicular diseases.

Achievements:

A standard double antibody sandwich (or capture antibody) ELISA was used for the detection of swine vesicular disease (SVD) antigen. Rabbit antiserum to SVDV was used as the capture antibody and either guinea pig or pig antiserum to SVDV as the detector antibody. A peroxidase labelled goat anti-guinea pig IgG or goat anti-pig IgG was used as conjugate and ABTS in citrate buffer was the substrate. Some problems of cross-reactivity were resolved by adding non-immune rabbit serum to the antigen preparation and rabbit serum as well as bovine serum to the detector antibody and to the conjugate. Positive results were obtained by both ELISA and virus titration methods with the mouse brain antigen, the tissue culture (SVD in PK15) and the tissues from pigs infected locally (bulb of heel), but not with tissues from pigs infected intravenously. Negative results were obtained with the same antigens when using non-immune rabbit serum as capture antibody and with uninfected control antigen when using non-immune rabbit serum and antiserum to SVD as capture antibody.

Scientists: C. Dubuc, P.F. Wright, A. Afshar, G.C. Dulac, P.T. Shettigara.

8605 Development of molecular virological techniques for the diagnosis of selected foreign animal diseases.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To develop improved techniques and reagents for the rapid detection and identifcation of viral nucleic acids or gene products *in vitro* and in naturally infected animals using modern molecular biological methods. Epizootic hemorrhagic disease virus (EHDV) has been selected to serve as the model system for development of these techniques, which will include electropherography and cDNA probe technology.

Achievements:

An improved method was developed for the rapid and efficient extraction of ds RNA genome segments from purified EHDV particles. After extraction, similar genome segments in other viruses are usually detected by separation of the segments by 10% PAGE with subsequent ethidium bromide or silver staining of the gels. These conditions were not adequate for detecting all the genome segments of EHDV and a new 10% to 15% gradient PAGE has been developed capable of detecting all segments. An initial comparison of several EHDV serotypes using this new method shows significant differences in genomic profiles. There appears to be one ds RNA segment common to all serotypes examined to date which might prove useful to cDNA probe development.

Scientists: A.D.E. Fraser, F.C. Thomas, C. Dubuc, A. Afshar.

8615 Development of a nucleic acid probe for the detection of pseudorabies DNA.

Location: ADRI, Nepean.

Objective:
To detect pseudorabies virus DNA on PRV-infected cell cultures and possibly on tissue cultures.

Achievements:

Purified pseudorabies virus DNA was digested with Bam HI and the restriction profile analyzed. Bam HI fragment 4 of PRV DNA inserted in *E. Coli* plasmid was labelled by nick translation using labelled nucleotide of high specific activity. The digested PRV DNA was subjected to Southern transfer and hybridization with the nick translated probe. The homologous hybridization bands were detectable up to a dilution of 0.1 pg of PRV DNA.

The nick translated probe was used to detect the viral sequence of PRV-infected cell cultures by dot blot hybridization. The hybridization of the probe to the cell cultures infected at differing M.O.I. was detectable up to M.O.I. = 0.01 at a dilution of 1/100, although no virus was detectable by virus titration at a dilution of 1/100 at each M.O.I.

Heterologous hybridization of the 32 P labelled probe on cell cultures infected with IBR, adenovirus, parvovirus and CMV showed cross-hybridization with cell cultures infected with IBR and adenovirus. No viral DNA was detectable with parvovirus and CMV-infected cell cultures.

Homologous hybridization studies of the probe on brain and tonsil tissues from pigs infected with PRV was performed by dot blot hybridization. No detectable hybridization pattern was observed on any infected tissues.

Scientists: N. Kuriyan, C. Dubuc.

II Meat Safety

8512 Epizootiology of trichinosis in Canada.

Location: APL, Sackville.

Objectives:
To study the parameters of preconditioning or the resistance of *Trichinella spiralis nativa* to low refigeration temperatures and to evaluate the ELISA for the diagnosis of trichinosis.

Achievements:

Survival of larvae was greater as preconditioning temperature was lowered. The minimum period of preconditioning required bore an inverse relationship to the refrigeration temperature. Preconditioning of *T. spiralis native* occurred in the musculture of guinea pigs, foxes, ferrets, mink and dogs; larvae survived longer in vulpine and canine tissues. Age of the infection was not a major factor although preconditioned larvae survived slightly longer in older infections.

The ELISA was shown to be a sensitive and specific test for the detection of *Trichinella* antibodies in porcine sera. The development of *Trichinella* antibodies is dependent on the magnitude of the infection established, age of the infection when the animal is tested and the immunocompetence or response to infection of individual animals. False negative ELISA reactions are recorded in early or light infections. Consequently the ELISA cannot be recommended as a procedure to ensure that pork or pork products are uninfected with trichinosis.

Scientists: H.J. Smith, G.G. Finley.

8529 Pathogenic mechanism fo anaerobic diseases.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To reduce significant economic losses because of necrobacillosis in the management and production of high-quality beef cattle.

Achievements:

A highly pathogenic strain of *F. necrophorum* was isolated from a case of necrobacillary bronchopneumonia in a steer. Electron microscopy and ruthenium red staining revealed the isolate contained well-defined acid-polysaccharide exopolymers.

A gold immunolabelling technique for electron microscopy was developed to detect membrane receptor sites in fusobacteria. These sites are important in "corncob" formation. Corncobs are species-specific cell-to-cell interactions between fusobacteria and streptococci. The streptococcal cells anchor their microfimbriae covalently to receptor proteins of the fusobacterial outer membrane. Corncob formation may be a mechanism in synergistic infections involving fusobacteria.

Scientists: M.M. Garcia, B.W. Brooks.

8564 The use of immunoassays for residue testing in meat samples.

Location: APL, Saskatoon.

Objectives:
To establish the feasibility of using immunoassay techniques for estimation of chemical residues in red meats by developing a method for zeranol.

Achievements:

Work continued on a procedure combining gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS) to confirm radioimmunoassay (RIA) results. (The RIA test developed at this laboratory is also sensitive to zeranol metabolites, including the naturally occurring toxin zearalenone.) Participation continued in a validation study of a GC-MS method developed for USDA by Cornell University. The method is claimed to be able to detect and confirm sub-ppb levels of diethylstilbestrol (DES) and zeranol.

Scientists: J.D. MacNeil, J.R. Patterson, A.C. Fesser, C.D. Salisbury in collaboration with S.E. Beacom, Z. Mir, Agriculture Canada, Research Branch, Melfort Research Station.

8571 Tissue-related factors affecting the detection and estimation of antibiotic residues in animal tissues by thin layer chromatography/bioautography.

Location: APL, Saskatoon.

Objectives:
To test the thin layer chromatography/bioautography (TLC/BA) antibiotic screening method on samples of various tissues from animals with a history of antibiotic administration; to compare reulsts of TLC/BA with results of STOP, APD microbial inhibitor and chemical confirmatory tests; and to determine effects of sampling and storage on recoveries.

Achievements:

Liquid chromatographic analyses for chlortetracycline were conducted on tissues from swine fed therapeutic levels. The drug was found in muscle, kidney and liver from all the treated swine despite observation of the suggested withdrawal time of seven days. Chlortetracycline residues were not detected in tissues from cattle fed a growth-promoting level of the drug.

Tissues from young calves were analyzed for chloramphenicol after 5, 21, 42 and 70 days withdrawal. More than 42 but fewer than 70 days of withdrawal were required before residues were below the 55 ppb detection limit.

Minimum detectable levels for the swab test on premises (STOP), the calf antibiotic and sulfa test, and the Animal Pathology Division microbial inhibitor test (MIT) were determined for 22 antibiotics for which tolerances have been proposed. As a result of this work the medium for the STOP tests conducted at Canadian packing plants was changed by the Meat Hygiene Division.

Calves were injected with the maximum recommended therapeutic dose of oxytetracycline and with extra label doses. Relative sensitivies were determined for the STOP, MIT, thin layer bioautography and HPLC procedures. The biological tests were not as sensitive as the HPLC analysis for oxytetracycline.

Scientists: G.O. Korsrud, J.D. MacNeil, W.D.G. Yates, J.R. Patterson, C.D. Salisbury in cooperation with J.M. Naylor, J.M. Bell, University of Saskatchewan, S. Beacom, Agriculture Canada, Research Branch, Melfort Research Station.

8580 Automation of data gathering and report formulation in residue chemistry.

Location: APL, Saskatoon.

Objectives:
To complete testing of developed systems for central sample log-in and the integrated sulfa and PCP system modules, with management and QA functions, on the 3COM network and to complete system evaluations with recommendations for future diagnostic development and implementation.

Achievements:
Evaluation continued in daily use of the SDS-16 system implemented in 1985-1986. Information on recently developed commercial software was obtained for evaluation.

Scientists: J.D. MacNeil, A.C. Fesser, J.R. Patterson, C.D. Salisbury, V. Martz with consultation from D. Hagborg, R. Rain, Agriculture Canada, Systems and Consulting Directorate.

8598 Immunization of rats and pigs against *Trichinella spiralis spiralis*.

Location: APL, Sackville.

Objective:
To investigate vaccination of rats and pigs with *T. spiralis nativa* against *T. spiralis spiralis* challenge.

Achievements:
Rats and pigs vaccinated with high doses of *T. spiralis nativa* infective larvae were shown to have virtually complete protection to challenge with *T. spiralis spiralis* a month later. The number of larvae established in the musculature of vaccinated challenged rats and pigs were negligible and statistically comparable; highly significant infections were established in non-vaccinated challenged groups.

Scientist: H.J. Smith.

8601 Survey of *Salmonella dublin* in B.C.

Location: APL, Richmond, B.C.

Objective:
To ascertain the extent of *Salmonella dublin* in B.C.

Achievements:
This survey has now examined approximatly four-fifths of the samples the plan calls for. To date *Salmonella dublin* has been isolated four times, twice at the same dog food manufacturing plant. On both occasions the organism was traced to the same farm: a veal producer experiencing chronic scours and pneumonia problems. Two animals were detected at a veal slaughter establishment and traced to the farm of origin. No other infected animal could be detected on the farm. A single calf at an auction sale was also detected; tracing on this calf has not yet been completed.

Scientist: Wm. J. Dorward.

8602 Detection of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in bovine milk and fecal samples using a DNA probe for the cytotoxin genes.

Location: APL Guelph, University of Guelph and University of Toronto.

Objectives:
To determine if bovines are a reservoir of VTEC and to evaluate the DNA probe method for the detection of these pathogens.

Achievements:
Initial experiments with the DNA probe showed an unacceptably high level of false-positive reactions. A rapid method using Vero cells was tested and found to give reliable results.

A survey of 1 046 milk line filter cultures collected from 464 dairy farms in Ontario found that 20 of the samples had verotoxic activity; from these nine verotoxic strains of *E. coli* were isolated. A second study was conducted on fecal samples obtained from 18 healthy calves housed on a research farm. Samples were collected each month for a three month period. Monthly infection rates ranged from 55-75% with an overall rate of 100%. Many of the calves also developed high titers of serum verotoxin-neutralizing antibody.

These studies indicate that verotoxin-producing strains of *E. coli* are present in raw milk and that clinically normal calves can shed these strains in their feces.

Scientists: R. Clarke with the collaboration of C.L. Gyles, S. McEwen, V. Gannon, T. Valli, University of Guelph and S. deGrandis, J. Brunton, University of Toronto.

8604 Comparison of media and methods for the isolation of *Salmonella* from foods.

Location: APL, Guelph.

Objective:
To reduce the time required for isolation of *Salmonella* from foods.

Achievements:
A filtration procedure has been developed to isolate *Salmonella* from pre-enrichment broths. *Salmonella* was isolated from 101 meat and poultry samples, including 77 naturally contaminated and 55 artificially contaminated samples. Of the 101 samples, 99 were isolated using the filtration technique of which 96% were obtained following a 6 h incubation period. Tetrathoinate brilliant green broth resulted in 93 isolations, 90% of which were obtained following a 6h incubation period There were 84 isolations using selenite cystine broth; 82% of them were obtained after a 6 h incubation. Use of *Salmonella* Poly O phage also aids in reducing the time required for identification. The combination of use of the filtration system and Poly O phage plus a reduction in the number of biochemical tests, can result in processing and tentative identification of isolates in as short a time as 66 h.

Scientists: R.B., Truscott, A. M. Lammerding.

8608 Development of new methodology for analysis of antibiotic residues in meat products.

Location: APL, Saskatoon.

Objectives:
To test, develop and validate in-plant screening procedures and laboratory analytical procedures which will support the implementation and enforcement of Canadian tolerances for antibiotics in edible tissues.

Achievements:

The HPLC method of quantitative analysis for tetracycline residues tested in 1985-86 has been implemented for routine use. Preparations have begun for an interlaboratory validation study of the method to be conducted in 1987-88. Work continued on the extension of the TLC-bioautography screening method to include additional antibiotics, with the finding that more thin layer chromatographic separation schemes and additional combinations of media and indicator organisms will be required to obtain maximum sensitivity for all 22 antibiotics for which testing is required. Conditions have been established for the formation of a derivative for sensitive UV-detection of penicillins and for the separation of these derivatives by high performance liquid chromatography (HPLC). Work is in progress to combine this with appropriate extraction and clean-up procedures for tissues samples. An assessment of TLC-bioautography and HPLC analytical methods for monensin was conducted using fortified tissue. Work is also under way to test method capability on samples of chicken tissue from birds with a known treatment history. Tissue samples from chickens fed various growth-promoting antibiotics are also being analyzed as part of a cooperative research project with the Kentville Research Station.

Scientists: J.D. MacNeil, J.R. Patterson, C.D. Salisbury, A.C. Fesser, V. Martz in collaboration with H.W. Hulan, Kentville Research Station, Agriculture Canada, P. Vander Kop, Graduate Student, Toxicology, University of Saskatchewan.

8609 Development of new methodology for analysis of non-antibiotic residues in meat and meat products.

Location: APL, Saskatoon.

Objectives:
To develop reliable chemical analytical methods, in support of diagnostic services, for the determination of residues of veterinary drugs and environmental contaminants.

Achievements:

A gas chromatography method has been implemented to determine residues of the hydroxy-metabolite of dimetridazole. It has a detection limit of 0.5 ppb. A pilot survey of swine liver is in progress.

To meet an increased demand for pesticide and PCB analysis in wildlife samples, the laboratory capability in pesticide residue analysis has been extended to include non-fat tissues and biological fluids. An unexpected benefit of this work was the research team's ability to provide emergency analytical support twice to Saskatoon's University Hospital in cases of lindane poisoning in children. A method to determine carbofuran residues has also been implemented and was employed in the analysis of several toxicological samples submitted by the Western College of Veterinary Medicine. Gel permeation chromatography in combination with gas chromatography/mass spectrometry was successfully employed in the analysis of wildlife samples where organosphosphate poisoning was suspected.

Scientists: J.R. Patterson, J.D. MacNeil, A.C. Fesser, V.K. Martz, C.D. Salisbury.

8610 Development of methods for improved detection of campylobacters in animals and foods and diagnosis of campylobacter infections.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To develop more rapid, reliable and cost-effective detection and recovery methods; to develop reliable identification and typing systems; to undertake physiological and growth studies for improved antigen production; and to undertake or assist in method development for vaccine evaluation.

Achievements:

Protein and LPS profiles as revealed by SDS-PAGE are being used to identify *Campylobacter coli* and *C. jejuni* and to search for a common antigen(s). Ten cephalothin-susceptible *C. coli* isolates from slaughter cattle, all serogroup 20, had similar protein and LPS profiles. Two other isolates both serogroup 26, had protein and LPS profiles that were similar to each other but which distinguished them from other isolates. Thus, serogroup could be predicted by SDS-PAGE profiles. This was confirmed with other isolates of serogroup 20 and 26 from several countries. Immunoblotting with non-absorbed sera raised against a number of serogroups commonly isolated from man indicated the presence of common antigens. This may be of value in determining the presence of campylobacters in meat and foods.

The plasmid profiles of the cephalothin-resistant and susceptible strains of *C. coli* were identical, and it seems likely that the gene(s) for this resistance are located on the chromosome.

The use of membrane filter discs (0.45 pm) allowed the detection of campylobacters from preputial and meat samples spiked with 10^5-10^6 *Campylobacter* cells.

A brucella broth-based medium was evaluated in growth curve studies. The lag phase from an endogenous culture was approximately 8 h. Maximum growth was attained after approximately 36 h with a viable cell count of approximately 10^8.

A serotyping scheme for *C. fetus* subsp. *venerealis* is being evaluated in slide agglutination tests on 40 Canadian and world strains. Eight serogroups based on heat-labile antigens and two to three serogroups based on heat-stable antigens have been discriminated. SDS-PAGE results indicate that there is a greater variability of cell protein profiles among *C. fetus* strains than among *C. jejuni*/*C. coli* strains.

C. fetus subsp. *venerealis* strains have been treated for glycine tolerance: 56% did not grow in medium containing 1% glycine, 18% grew in medium containing 1% glycine, and 26% grew in medium containing 1.3% glycine. None grew above this glycine concentration. It is recommended that 1.5% rather than 1.0% glycine be used as the cut-off concentration for *C. fetus* species differentiation.

Capability has been achieved in applying gas chromatographic technique for confirming *C. jejuni/C. coli* cultures giving ambiguous results in the rapid hippurate test. A service to perform this was communicated to assist meat bacteriology labs encountering problems with hippurate-questionable cultures.

Scientists: M.M. Garcia, R.B. Stewart, K.L. Malkin, A.D.E. Fraser, B.W. Brooks, M.D. Eaglesome.

III Program Indigenous Diseases

8517 Studies of the pathogenesis of rabies in skunks.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To determine whether rabies spongiform change is viral strain-dependent; to determine the extent of lesions in naturally occurring cases; to study pathogenesis of this lesion to determine immunologic mechanisms involved in immune suppression of salivary gland infection. To check frequency of this phenomenon in spontaneous cases; and to collaborate in the development of rabies vaccines for wildlife.

Achievements:
On June 1, 1986 the rabies unit officially adopted a new rabies tissue culture test to replace the mouse inoculation test in rabies diagnosis. The new test produces results in four to five days instead of 15-30 days and saves approximately $35-40K in animals and material.

Studies of rabies spongiform lesions indicate that rabies infection of the central nervous system is required for production of spongiform change. However, in specific brain regions containing this lesion, there is no correlation with amount of rabies antigen. This suggests that the development of spongiform change does not require the presence of antigen in the neurons in which the vacuoles develop. Thus they are probably an indirect effect of rabies infection in other parts of brain. This may be important in comparative studies of the pathogenesis of spongiform change caused by other agents (e.g., subacute spongiform encephalopathies).

The spongiform lesions of scrapie in skunks were compared with those caused by rabies. Generally the spongiform lesions of scrapie were more widespread and a higher proportion of the vacuoles were small compared with those of rabies.

Studies are continuing on a vaccinia virus recombinant containing the rabies glycoprotein. To date, it is the only experimental rabies vaccine that has produced a high rate of immune responses in skunks given rabies vaccine orally.

Scientists: K.M. Charlton, G.A. Casey, W.A Webster, A. Bundza.

8521 Serological diagnosis of brucellosis

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To characterize and understand antigens of *Brucella abortus* with an aim to improving diagnostic methods.

Achievements:
In 1932, Wilson and Pirie identified an "A" antigen of *B. abortus* and an "M" antigen of *B. melitensis*. The research team identified these antigens as O-chain polysaccharides. The molecular structures of the polysaccharides indicate that the differing serology of the antigens is due to "twists" in the polymers.

The mechanism of cross-reactions between *B. abortus* and *B. melitensis*, as well as with other organisms (e.g., *Yersinia enterocolitica* 0:9, *Vibrio cholera*, *E. coli* 0157:H7, *Salmonella landau*) can now be attributed to the finding that the O-chains on the lipopolysaccharides have similar sugars and linkages.

A compound "poly-B" has been described as composed of glucose but having cross-reactivity with *Brucella* O-chain. It was determined that these preparations are mixtures, having B-glucose polymers (major component) and O-chains (antigenically active ingredient).

Sera from animals infected with *B. abortus* can be differentiated from sera from vaccinated animals of high titer. Sera from infected animals react with the O-chain; sera from vaccinated animals do not. Such discrimination can be done on Ouchterlony plates or by a developed ELISA. This may be a model for differentiating between animals that are vaccinated and those infected with other diseases.

Scientists: J.W. Cherwonogrodzky, K.H. Nielsen, P.F. Wright, E.A. Sugden, in collaboration with M.B. Perry, D.R. Bundle, National Research Council of Canada.

8523 Enzyme immunoassay development and application to bovine brucellosis.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To establish diagnostic enzyme immunoassay protocols for detecting bovine serum and milk antibodies to *B. abortus*, and to assess the diagnostic relevance of highly purified *Brucella* carbohydrate antigens.

Achievements:
This project culminated in the transfer of enzyme immunoassay technology from the research to the diagnostic laboratory. Eight diagnostic laboratories within the Animal Pathology Division received not only the transfer of a new assay technology but also new instrumentation, microcomputers, automation and quality control.

Representatives from each laboratory took a one-week training course at ADRI, Nepean. After this, they spent time becoming familiarized with the techniques in each laboratory. Site visits were made to those laboratories experiencing difficulty.

Several problems were identified, some pertaining to assay technology and instrumentation in general and others to the *Brucella* assay itself. Corrective measures were initiated.

Invaluable experience gained from this initial tranfer of enzyme immunoassay technology will ease the transition of future assays.

Technology transfer is a continuing commitment. Areas of special attention include further automation, liquid handling, sample tracking, inter-laboratory quality control and laboratory certification. Computer support remains a priority and is continually being refined and expanded.

Scientists: P.F. Wright. J. Cherwonogrodsky, K.H. Nielsen, E.A. Sugden, J.R. Duncan.

8541 Characterization of the etiological agent of scrapie.

Location: ADRI, Lethbridge.

Objectives:
To attempt to isolate and characterize scrapie agent to elucidate pathogenic mechanisms and permit recommendations to be made for control or eradication of the disease.

Achievements:

A polyclonal antibody to SAF protein was found to react repeatedly and reproducibly with a host cellular protein with an apparent molecular weight of 28K dalton from uninfected and scrapie-infected hamster brain using Western blotting technique. The polyclonal antiserum did not identify the "precursor protein" of 33K-35K molecular weight. An antibody to a custom-made synthetic polypeptide of 16 amino acids was prepared in two rabbits and is being studied. The synthetic peptide was prepared based on the previously published amino acid sequence of SAF polypeptide. The hamster inoculation assay showed that polyclonal antibody to SAF protein does not neutralize scrapie infectivity.

A library of nucleic acids were extracted from the SAF preparations, which are enriched with scrapie infectivity. Using poly(A)-polymerase, poly A could be tailed to the extracted nucleic acids. A double-stranded cDNA library has been constucted using recombinant DNA technology. The cDNA was ligated to pUC 13 vector and cloned into JM83 host cells. The library of cDNA clones are being studied to identify scrapie specific gene.

Scientist: H.J. Cho.

8554 A descriptive and epizootiological study of brucellosis and tuberculosis in bison (*Bison bison*) in northern Canada.

Location: APL, Saskatoon.

Objectives:
To determine the occurrence, prevalence and distribution of brucellosis and tuberculosis in northern bison; to determine the range of wildlife hosts of brucellosis and tuberculosis and their potential significance as carriers and reservoirs; to determine the biotypes of *Brucella abortus* and their geographic and species distribution; and to determine the pathological effects of brucellosis and tuberculosis in naturally infected bison and other wildlife.

Achievements:

Necropsies were done on 20 purebred wood bison in the Mackenzie Bison Sanctuary near Fort Providence, Northwest Territories and sera were collected from 10 others that were chemically immobilized. All animals were in good condition and there was no gross evidence of brucellosis or tuberculosis. This was confirmed by histology, bacteriology and serology. These data indicate that brucellosis and tuberculosis are not enzootic, and likely are not present, in this population of 1 700 wood bison. Thus, the diseased, hybrid bison in nearby Wood Buffalo National Park and the Slave River Lowlands pose an increasing threat to the health and genetic integrity of the rapidly expanding wood bison population in and around the Mackenzie Bison Sanctuary.

Scientists: S.V. Tessaro, L.B. Forbes, C. Turcotte, in cooperation with G.A. Wobeser, WCVM, University of Saskatchewan, C. Gates, Northwest Territories Wildlife Service.

8570 Applications of biotechnology to brucellosis diagnosis and control.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To develop genetically modified avirulent strains of *Brucella abortus* for production of improved vaccines and reagents; and to develop processes and reagents for rapid, safe and sensitive diagnosis of brucellosis.

Achievements:

During the past year the study group purified Tb brucellaphage DNA, showed, by restriction endonuclease analysis, that it was distinct from host cell DNA, and prepared a DNA probe that could detect it in the presence of large amounts of host cell DNA. For the first time, brucellae were reported to be able to accept, maintain and transfer plasmids and integrate plasmid DNA, all with no apparent effect on host cell characteristics. The group cloned *B. abortus* DNA into *E. coli*, initiated screening of recombinant clones, and formulated strategies for construction of new *Brucella* strains by transposon mutagenesis and gene replacement during the next year. It also further improved the cloth-based immunoassay for detection of *Brucella* antigens by introducing polypropylene cloth as the solid phase.

Scientists: C.E. Rigby, A.D.E. Fraser, M.L. Cerqueira-Campos (NSERC), with the collaboration of H. Yamasaki, Carleton University.

8579 Development of monoclonal antibodies for primary binding assays, *Brucella* enzyme immunoassay and detection of antigens.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To evaluate monoclonal antibodies for use in diagnostic enzyme immunoassay to detect bovine serum antibody to *Brucella abortus*; to design and evaluate enzyme immunoassay procedures to differentiate the antibody response of cattle vaccinated with *Brucella abortus* Strain 19 from those that are field infected; and to prepare and evaluate monoclonal antibodies to *Mycobacterium paratuberculosis* and anti-idiotypic antibodies to antibody to *Brucella abortus*.

Achievements:

Monoclonal antibodies to the bovine immunoglobulin light chain and to heavy chain determinants of IgM, IgG2 and IgA were developed and evaluated for specificity. These reagents have been conjugated with horseradish peroxidase,

alkaline phosphatase and fluorescein isothiocyanate. These reagents are in the final stages of evaluation in the diagnostic enzyme immunoassays for bovine antibody to *Brucella abortus* and *Mycobacterium paratuberculosis*. Two enzyme immunoassays for differentiating the antibody response of cattle vaccinated or field infected with *Brucella abortus* were developed. Both assays used the purified O-chain at lipopolysaccharide prepared from Strain 1119.3. One assay was an indirect line using monoclonal antibody to the bovine light chain conjugated with horseradish peroxidase as the detection reagent; the other, a competitive type assay, used monoclonai antibody to lipopolysaccharide conjugated with horseradish peroxidase. During the research, both assays appeared to function well. Monoclonal antibodies to *Mycobacterium paratuberculosis* are currently being evaluated for their ability to detect the antigen in a capture type enzyme immunoassay. An anti-idiotypic antibody to *Brucella abortus* antibody is being tested in a competitive enzyme immunoassay.

Scientists: K. Nielsen, J.R. Duncan, P.F. Wright, A.M.P. Bouillant.

8583 Virus infections diagnosis and production of viral antigen by molecular techniques.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To develop cell systems that permit production of a high yield of retrovirus; to optimize production of retroviral antigens in suspension culture; to purify and concentrate retroviral antigens for diagnosis; and to develop micro-serological methods for diagnosis of Maedi-Visna, Caprine arthritis-encephalitis and Bovine Maedi-Visna-like viruses.

Achievements:
Quality control studies of Equine Infectious Anemia Virus antigen production have further demonstrated the persistence of viral infection and antigen release for more than 165 subcultures. The cell line was grown in suspension culture and in serum-free medium, decreasing production costs and improving quality and purity of the final product. The specificity of the antigen was demonstrated by the absence of cross-reactions with other retroviruses.

Scientists: A.M.P. Bouillant, K. Nielsen, G.M. Ruckerbauer.

8603 Improved bacteriological and serological methods for the diagnosis and characterization of *Brucella spp.* infecting wildlife and domestic animals.

Location: APL, Saskatoon.

Objectives:
To characterize *Brucella* isolates, particularly those from wildlife species; to evaluate and compare methods for the primary isolation of *Brucella spp*; to evaluate the *Brucella* ELISA system for use on wildlife serum samples, particularly those that would be classed as unfit in conventional tests; and to determine the pathogenicity of *B. suis* biotype 4 for cattle, sheep, and swine.

Achievements:
It has been shown that the atypical *B. abortus* biotype 2 isolates seen in Canada are identical to those seen in the United States and that both may be a new biotype (work in collaboration with the National Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa). Characterization of the only two known Canadian *B. canis* isolates has shown them to be two distinct and apparently stable strains, one similar to the original U.S. isolates, the other similar to strains isolated in Mexico. Both the *B. abortus* and *B. canis* strains characterized could serve as useful epidemiological markers.

A tissue processing procedure using high-speed centrifugation has been found superior to conventional procedures using tissue-mincing or homogenization for the primary isolation of *Brucella*. In this procedure, tissues are homogenized in a Stomacher blender, than centrifuged at 800 g for 10 minutes. The resulting supernatant is recentrifuged at 2 000 g for 20 minutes and the sediment used as inoculum.

Scientists: L.B. Forbes, S.V. Tessaro.

IV Nonprogram Indigenous Diseases

8502 Johne's Disease: Interrelationship to diagnostic methods of immunopathic mechanisms of bovine, ovine and caprine paratuberculosis.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To develop improved diagnostic tests and prophylactic procedures to control paratuberculosis in domestic livestock.

Achievements:

Improvements of cultural methods

Centrifugation and decontamination for 24 hours was superior to sedimentation and decontamination for 24 to 48 hours in recovery of *M. paratuberculosis* from fecal samples of cattle.

Ketaconazole was effective in controlling fungal contaminants in some specimens and did not inhibit *M. paratuberculosis*. However, it is fungistatic and loses activity upon prolonged incubation.

Attempts to improve methods for cultivating strains from small ruminants were unsuccessful.

Oral challenge experiments

Goat oral challenge (0.1 mg of *M. avium* serotype 2)

Postmortem examination showed that compared with previous experiments using higher doses the development of disease took longer and was less severe. *M. avium* was isolated from fecal samples on four, six, and eight and 12 weeks after inoculation. *M. avium* was isolated from one or more of the following: liver, spleen, kidney, mesenteric lymph nodes, ileum; most isolations were from the latter two. Serological tests (AGID and CF) indicated a >50% seroconversion to "D" antigen, but a low frequency of seroconversion to the "carbo" antigen. This confirms previous findings that *M. avium* serotype 2 induces reactors to the paratuberculosis AGID test.

Sheep oral challenge (0.1 mg or 0.01 mg. *M. avium* serotype 2)

Organisms were isolated from fecal samples (five and six weeks after inoculation) and from tissues of two out of four animals receiving the higher dose. The two animals showed gross lesions at postmortem examination. Seroconversion by AGID was observed in the two animals, but LST indicated that all animals in the group receiving the higher dose were infected and distinguishable from negative controls, in contact controls and the lower exposure group.

New-born lamb challenge (0.1 mg or 0.01 mg *M. avium)*

M. avium was iolated from tissues and fecal material from all lambs given the higher dose. Lower numbers of *M. avium* were isolated from the tissues of two animals and fecal material from one animal in the group given the lower dose.

Goat oral challenge (caprine *M. paratuberculosis* strain)

No clinical signs were seen in two goats inoculated in July 1985. *M. paratuberculosis* was isolated regularly from one goat since December 1985 and the other since May 1986.

New-born lambs *(M. paratuberculosis* bovine and caprine strains — 10 mg).

M. paratuberculosis was isolated from fecal samples on weeks five, six and eight from lambs given the bovine strain but not from those given the caprine strain. Lymphocyte Stimulation Test responses were found in lambs given the bovine strain but not in those given the caprine strain.

Chicken intraperitoncally challenge with *M. avium* and *M. paratuberculosis* (bovine and caprine strains)

Postmortem lesions were found only in birds given *M. avium*. *M. avium* was recovered from spleen and liver of two birds, but *M. paratuberculosis* was not isolated from spleen or liver of four birds.

Characterization of M. paratuberculosis isolates

When cell preparations were run on SDS-PAGE most of 100 bovine isolates were found to have similar protein profiles. Five isolates had different protein patterns.

Attempts were made to detect plasmids in *M. paratuberculosis*. Standard DNA extraction procedures for *E. coli* are not suitable for mycobacteria. Harvested cells were treated with chloroform/phenol, detergent/osmotic shock and lipase. Chromosonial DNA was isolated by detergent/osmotic shock or lipase treatment followed by detergent lysis. Plasmids have not yet been detected.

Antigen purification

The use of Lipoarabinomannan (LAM) antigen in an ELISA (LAM-ELISA) for the serodiagnosis of ovine paratuberculosis resulted in a two-to three-fold increase in sensitivity compared with the complement fixation test. Combination of LAM-ELISA with the agar gel immunodiffusion test gave increased specificity in detecting antibodies to "D" antigen. Cut-off values for LAM-ELISA were established in studies of mixed infections (paratuberculosis with caseous lymphadenitis or Maedi-Visna infections) and the effect of age (particularly in minimal disease flocks). The physical heterogeneity of LAM antigen was studied and "A" and "D" antigens are being purified to increase the sensitivity of detection of paratuberculosis by ELISA.

Antigenic Analysis

Serological response of 74 sheep from one flock of *M. paratuberculosis* was evaluated using countercurrent immunoelectrophoresis (CIE). CIE confirmed AGID results indicating a high reactivity of animals with positive paratuberculosis status (based on histopthology) to the "D" antigen. Sensitivity and specificity of the "D" antigen for serological diagnosis of paratuberculosis were 86.4% and 92.3% respectively using CIE as compared with 81.8% and 88.5% respectively with AGID. The magnitude of the response to the "D" antigen correlated well with bacterial load.

The "D" antigen component of *M. paratuberculosis* identified by CIE appears to be a high molecular weight (HMW) band on SDS-PAGE. This HMW band dissociates if boiled in SDS lysis buffer. Protein and carbohydrate components of *M. paratuberculosis* culture filtrates and sonicates have been identified by SDS-PAGE. Sheep sera examined by CIE have been analyzed by immunoblotting with sonicate and culture filtrate antigen preparations from one laboratory strain of *M. paratuberculosis*.

Corynebacterium pseudotuberculosis studies

Ultrastructural studies of urease-positive and negative strains revealed cell walls similar to gram positive organisms and the presence of a ruthenium red stained acid polysaccharide capsule. Cells grown on solid media containing 1% Tween 80, formed a confluent growth and showed a thinner ruthenium red stained capsule than those grown without the detergent. These results provided the basis for evaluating media for carbohydrate antigen production. Two batches of *C. pseudotuberculosis* cells from bulk culture were extracted for LAM in the same manner as for *M. paratuberculosis*. The yield of LAM from corynebacteria was lower than from *M. paratuberculosis*.

Long-term studies on ADRI partuberculosis herd

The monthly monitoring of 30 cattle by fecal culture, serology and LST continued. This population consists of animals two to ten years old that are born at ADRI or raised there from birth. Fourteen have had no direct exposure to animals other than their dam. All but one of the dams were low-level intermittent fecal shedders.

Paratuberculosis studies in industry sheep flocks

No reactions to Maedi-Visna and weak AGID reactors to *M. partuberculosis* were found in one flock test. The animals were culled as well as poor performers and clinical suspects.

The performance of current and new diganostic tests, as well as the evaluation of further new antigens, are being studied in a second flock test.

Scientists: J.R. Duncan, B. Brooks, A.H. Corner, A. Fraser, M.M. Garcia, J. Stevens, E.A. Sugden, C. Turcotte.

8530 Perinatal mortality: the contribution of perinatal mortality, maturation and adaptation to losses of newborn animals.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To elucidate causes of perinatal mortality in pigs and cattle, particularly within 48 hours of birth to provide a rational approach to the reduction of losses.

Achievements:

The death of piglets during or immediately after birth represents one of the largest costs to the producer. (About 55% of mortality occurs within 48 hours.) This project was designed to increase the knowledge of factors controlling fetal maturation and the timing of parturition and the biophysical aspects of parturition to reduce such losses.

Fetal maturation studies have focused on the control of the deposition of glycogen stores, which are the major energy supply after birth and are influenced by fetal hormonal and nutritional concentrations. Liver and muscle glycogen concentrations are reduced and lung glycogen remains elevated in fetuses in which the pituitary gland has been destroyed because of failure of normal maturation. Infusion of these hypophysectomized fetuses with glucocorticoids increased liver and muscle glycogen and reduced lung glycogen concentrations, suggests that the fetal adrenal is an important route for pituitary action.

The role of uterine-produced prostaglandin F (PGF) in the onset of parturition in pigs has been investigated by putting small doses of PGF into a uterine vein (25-200 pg/10 min/h for 10 h) and following endocrine changes by means of short-interval sampling. Sows farrowed within 30 h at all dose ranges, but profiles of progesterone, relaxin and prolactin concentrations varied markedly. The lower doses (25-50 pg/h) caused distinct 'spikes' of physiological levels of relaxin and prolacin and short-lived (52/15 min) 'spikes' of PGF metabolite. These methods may provide a more physiological model to investigate parturition in pigs. Methods for the short-term culture of placental cells *in vitro* were developed to study changes in prostaglandin production in late gestation and labor. No significant changes in the output of prostaglandins E and F were observed, but a decline in the production of prostaglandin (assayed as its metabolite PG 6-Kets Fix) was seen in all placental tissue collected during labor.

Scientist: G.C.B. Randall.

8533 Studies on lymphoid leukosis in chickens.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To develop rapid diagnostic techniques and other procedures that can be used by industry to control lymphoid leukosis; to develop *in vitro* methods for assessing genetic resistance to avian leukosis viruses; and to determine the pathogenesis of lypmhoid leukosis.

Achievements:

The large-scale experiment aimed at eradicating avian leukosis virus (ALV) from breeding flocks at the Animal Research Centre (ARC) continued. Approximately 15 000 eggs were tested for group-specific viral antigen by ELISA and a variety of specimens were tested by the phenotypic mixing test procedure. The incidence of infection in egg-laying stocks was significantly reduced. However, attempts to reduce the percentage of meat-type hens that produce eggs positive for viral antigen were not successful. This is probably because antigen in eggs of meat stocks resulted from expression of endogenous viral genes.

The project determined that cell membrane vesicles are normal constituents of medullary macrophages in the bursa of Fabricius and showed that these vesicles play a unique role in the replication of ALV.

The susceptibility to infection with ALV of chickens carrying the slow-feathering gene was compared with rapid-feathering chickens of similar genetic stock. Tests conducted for viral antigen, virus and antibody showed that all chickens were susceptible to infection, but a higher percentage of slow-feathering chickens were viremic at 20 weeks post-inoculation. This finding suggest that the slow-feathering chickens are less efficient than rapid-feathering birds in mounting an immune response against the infection.

Histological and ultrastructural studies on lymphoid tumors found in specific pathogen free chickens at ADRI concluded that the tumors were typical of lymphoid leukosis. No virus particles were found in lymphoid tissue and this supported previous data that the tumors were not induced by exogenous avian tumor viruses.

Preliminary evidence obtained in cooperative studies with ARC and USDA in Michigan showed that in one strain of chickens endogenous proviral genes were associated with lower egg production and higher body weight.

A study was completed on the use of feather pulp organ cultures for assessing host resistance to infection with leukosis-sarcoma viruses. The procedure can be used for detecting chickens that are genetically resistant to ALV.

Avian reticuloendotheliosis viral antigen and antiserum were produced for use in the agar gel precipitin test. Based on the test, flocks at ADRI and ARC were negative for the virus.

Scientists: J.L. Spencer, F. Gilka, S.S. Chen, with collaboration of J.S. Gavora, J.R. Chambers, R.W. Fairfull, Animal Research Centre, Agriculture Canada.

8534 Studies on the etiology, pathogenesis, epizootiology and control of Marek's disease.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To improve tissue culture procedures for cultivating Marek's disease viruses and to compare development of Marek's disease and lymphoid leukosis virus infections.

Achievements:

Tissue culture plates coated with vitreous humor were found to greatly enhance attachment and, hence, growth of chicken kidney cells. Growth of kidney cells on plates coated with vitreous humor was comparable with that on commercially available plates coated with extracellular matrix (ECM). However, there was greater adhesion of cells to ECM-coated plates than to regular plates or ones coated with vitreous humor (based on absence of peeling even after prolonged culture periods). ECM plates are costly; coating with vitreous humor is simple and economical and the plates can be stored three months and more at refrigerator temperature. The improved growth of chicken kidney cells facilitates cultivation of Marek's disease virus and should also prove useful for cultivating other avian viruses.

Since replication of ALV in the bursa of Fabricius was most prominent in medullary macrophages a preliminary electron microscopic study was conducted to determine if these cells also played a role in replication Marek's disease virus. No complete virus particles were found in the bursa but it appeared that medullary macrophages were stimulated by

SB-1 Marek's disease virus. This observation was of interest as vaccination with SB-1 has been shown to increase susceptibility of chickens to lymphoid leukosis.

Scientists: J.L. Spencer, F. Gilka, S.S. Chen, with collaboration of J.S. Gavora, P. Sabour, Animal Research Centre, Agriculture Canada.

8547 Synergism in respiratory disease of cattle.

Location: ADRI, Lethbridge.

Objectives:
To define viral-bacterial interactions in bovine respiratory disease and to provide and test methods of its control.

Achievements:

A third experiment was conducted on the evaluation of a *P. haemolytica* bacterin when challenged by the BHVI-*P. haemolytica* model. The experiment failed; controls did not develop extensive disease. Insufficient virus exposure and/or severe climate change (outdoors to indoors) a few days before challenge may have caused this result. Full confidence in the infectious inocula was regained by subsequently producing extensive disease in two calves with futher cultures of BHV1 and *P. haemolytica*.

An experiment on the interaction of attenuated BHV1 and *P. haemolytica* (85B) provided the opportunity to do a detailed histologic study of *P. haemolytica* pneumonia and to interpret its pathogenesis.

The statistical analysis on viability of *P. haemolytica* in aerosol at differing temperatures and humidities was concluded and it was learned that *P. haemolytica* is not viable in the first 15 seconds after aerosolization (feedlot relevance) at high temperature and low humidity.

Scientists: K.W.F. Jericho, H.J. Cho, K.G. Loewen, S.P. Gale.

8550 Adaptation of ELISA test for the serodiagnosis of infectious diseases of livestock.

Location: ADRI, Lethbridge.

Objective:
To improve and adapt diagnostic tests for detecting and quantitating antibodies and antigens of various economically important, infectious diseases.

Achievements:

An enzyme immunoassay (ELISA) was adapted to detect antibody to *Brucella ovis* in ram sera. The method was applied to field samples for the diagnosis of *B. ovis* epididymitis and its efficacy compared with that of the complement fixation test.

The specificity of *B. ovis* antigen was found to be less than desirable, both for ELISA and CF applications.

Scientists: H.J. Cho, G.J. Bohac, L. Niilo.

8557 Pathogenic effect of *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Parainfluenza-3 virus* on the ovine lung; association of the host reponse to *Mycoplasma ovipneumoniae* with the pathogenesis of pneumonia in sheep.

Location: APL, Sackville

Objectives:
To determine the effect of *M. ovipneumoniae* on the ovine lung when administered seven days post-infection with PI-3 virus; and to determine if previous exposure of the ovine lung to *M. ovipneumoniae* is associated with the pathogenesis of pneumonia.

Achievements:

Most of the lambs challenged intratracheally with *M. ovipneumoniae* seven days after PI-3 virus infection, developed microscopic lesions of proliferative interstitial pneumonia (PIP), having a higher average lesion score than the few animals that developed lesions when inoculated with either agent. The extent of lung involvement was less than that seen in natural cases of the disease. Levels of *M. ovipneumoniae* in the lungs of the lambs previously exposed to the PI-3 virus were only slightly higher than those in the group of lambs challenged with *M. ovipneumoniae* alone. This observation does not correspond to that seen in the case of other animal models of secondary bacterial infections. Day seven post-virus infection has been shown to be the time where animals are more susceptible to bacterial multiplication because of a maximal depression of the antibacterial defence mechanisms of the lung. Results suggest that previous viral infection might not facilitate mycoplasmal multiplication as in the case of cell-walled bacteria, but may favor the development of pneumonic lesions by a different mechanism.

Previous exposure of the ovine lung to repeated doses of ultraviolet light-killed *M. ovipneumoniae* resulted in less multiplication of live *M. ovipneumoniae* after intratracheal challenge, yet more animals developed microscopic PIP lesions.

Inclusion of homologous lung tissue in the challenge inoculum prevented the development of PIP in seven of eight lambs, despite allowing 3.6 times as much multiplication of *M. ovipneumoniae* in the lung.

When a challenge system PI-3 virus followed by live *M. ovipneumoniae* was used, previous exposure of lambs' lungs to repeated doses of mycoplasmal antigens reduced the multiplication of *M. ovipneumoniae* in the lung ninefold. However, 62% of these lambs developed PIP, compared with 25% of the lambs in the group not previously exposed to the mycoplasmal antigens. PI-3 virus collaboration was not required for *M. ovipneumoniae* to induce PIP after previous exposure of the lung to the mycoplasmal antigens.

These results suggest that the host response to repeated doses of *M. ovipneumoniae* antigens favors the development of PIP lesions in spite of limiting the extent of *M. ovipneumoniae* multiplication in the lung, probably because of an immunological response. This effect can be counteracted by inclusion of homologous lung with the challenge organism. The overall picture suggests an immune mechanism induced by *M. ovipneumoniae* antigens against the lung tissue.

Scientists: J. Lopez, G.G. Finley, C.L. Simard.

8559 Studies on bovine virus diarrhea virus infection in cattle.

Location: ADRI, Lethbridge.

Objectives:
To explain the absence or non-reactivity of neutralizing antibodies in sera of congenitally infected fetuses and calves to contribute to the understanding of persistence of bovine virus diarrhea virus (BVDV) ("mucosal disease" form).

Achievements:

The virus was detected in fetal kidneys, spleen lymphocytes and peripheral blood lymphocytes. Humoral immune response of the fetus to non-cytopathogenic BVDV infection was of IgM class lacking the anti-BVD antibody specificity. Specific anti-BVD antibodies were never detected. The virus was found to circulate in the plasma in the form of the complex with the heterophile IgM, either enclosed in membranous structures derived from cytoplasmic vacuolar systems or released from them. Morphologically, non-cytopathogenic BVDV is composed of a nucleocapsid lacking the envelope but covered with a thick layer of IgM. The complex was broken down into nucleocapsid and IgM. Subunits of virus membranes were also successfully isolated and their antigenic activity was studied in AGID. The infected fetus eliminates the virus with the urine into the allantoic fluid. The virus was isolated from the fluid and detected by EM. Release of the accumulated virus from allantoic fluid during delivery may be a main source for spreading BVD infection. Stationary cultures were initiated with fetal bovine spleen lymphocytes and monolayer cultures were established. Uniform cells similar to Raji strain were found to contain BVD virus and IgM; the IgM identifies them as of B-cell origin, and these cells formed erythrocyte antibody complement rosettes when dispersed. They continuously released BVD virus and media. The cells were highly susceptible to superinfection with the cytopathogenic strain of BVD virus, but they tolerated and internalized a mixture of cytopathogenic BVDV and neutralizing antibody. Anti-nucleocapsid antibodies were found to be cytotoxic to blastoid cells. The cells were successfully subcultured and attempts are in progress to keep them in a continuous line.

Scientists: G.J. Bohac, H.J. Cho.

8560 Infections in wild birds.

Location: APL, Richmond.

Objectives:
To demonstrate the presence or absence of Newcastle Disease virus and other chick embryo lethal agents in migratory waterfowl and other birds that might pose a threat to domestic poultry flocks in the lower mainland area of B.C.

Achievements:

In 1986, 942 avian specimens were examined for the presence of chick embryo lethal agents, *Salmonella species* and *Campylobacter species*.

Salmonella parera was isolated from 30 common sparrows submitted by the Canada Wildlife Service. Imported finches were the source of *Salmonella typhimurium* isolations. No *Campylobacter* isolations were made during the past year.

There were seven avian virus isolations during 1986: four of *Chlamydia*, two paramyxovirus agents and one unidentified hemagglutinating agent that was non-pathogenic to poultry.

Scientist: A.C. MacNeill.

8569 Development of a non-pathogenic *Salmonella* vaccine for calves.

Location: APL, Guelph and the University of Guelph.

Objectives:
To develop and evaluate a live, non-pathogenic *Salmonella typhimurium* vaccine for calves.

Achievements:

A 60 Md virulence plasmid that enhances survival in macrophages and serum resistance has been identified in *Salmonella typhimurium*. Since macrophage killing is a key element in the immune response to *Salmonella* these plasmid virulence genes are being cloned to gain a better understanding of their function. Electrophoretic analysis of *Salmonella typhimurium* strain 3860C, which is highly pathogenic for cattle, indicated that it harbors three plasmid species of molecular weights 90, 60 and 3 Md.

Transposon-insertion mutants were prepared by random insertion of either *Tnl*(ApR) originating on plasmid pTH10 or *Tn5*(KmR) from F' ts114 lac plasmid. A number of mutants were isolated which contained only the 60 Md plasmid. Studies in mice indicated that all the mutants containing the 60 Md plasmid had on LD50 similar to that of the parent strain. All but one mutant were unaffected by the bactericidal activity of the guinea pig serum; pronounced serum sensitivity was observed, however, when the 60 Md plasmid was tranferred into *E. coli* K-12 host WA 802.

The 90 Md plasmid from strain 3860C was found to have a thermosensitive mode of conjugal transfer, with an optimum temperature for transfer of 26 to 30°C. Studies with plasmids of the H incompatibility group (HI1, HI2, HI3) have demonstrated that the 90 Md plasmid from *Salmonella typhimurium* strain 3860C belongs to group HI2.

Scientists: R. Clarke, N. Harnett, with the collaboration of C.L. Gyles, University of Guelph.

8589 Genital ureaplasmosis in cattle.

Location: ADRI, Lethbridge.

Objective:
To gain further knowledge of genital ureaplasmosis in cattle in Western Canada.

Achievements:

Six *Ureaplasma*-negative heifers were divided into two groups of three and kept in isolation. One group was infected with T-44 at the time of insemination, which resulted in one case of infertility, one abnormal conceptus and one normal pregnancy. The second group was infected with T-288 strain and all three were infertile, suggesting that this strain could be considered pathogenic. Only the heifer with the normal pregnancy remained free of *Ureaplasma*. All others became positive for the strain used to infect them. The T-44 heifer

with the abnormal conceptus and the T-288 group did so immediately after infection. The T-44 infertile heifer became positive in the third week post-infection. No positive animals went negative during the test period.

Scientist: S.P. Gale.

8592 Micro-organisms in bull semen.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To study the effect of micro-organisms in bull semen on fertilization and embryonic development and their ability to cause disease and to develop assays to identify and enumerate micro-organisms in bull semen.

Achievements:

The approach to the first objective is to develop models using *in vitro* fertilization and to conduct *in vivo* transmission experiments.

In experiments using the sperm penetration assay (SPA) and *Ureaplasma sp.* and IBR virus, no harmful effects were observed on the viability of mobility of the sperm, nor was there any difference in sperm/egg interactions between treated and untreated control samples. The SPA makes use of the ability of sperm to penetrate zona pellucida-free hamster oocytes *in vitro*.

In transmission experiments, the *Ureaplasma* strain used did not cause pathological changes in the reproductive tract of treated heifers, nor did it interfere with fertilization and early embryonic development. The results with *Mycoplasma bovis* suggest that this organism can affect fertilization and embryonic development.

The experimental data suggest that the SPA may be a laboratory means of testing fertility.

Developmental aspects of an enzyme immunoassay for the detection of *M. bovis* antigen in bull semen were completed.

Scientists: M.D. Eaglesome, W.C.D. Hare, K. Nielsen, M.M. Garcia, F. Gilka.

8596 The application of microtechniques to the study of infectious disease in early embryos.

Location: ADRI, Nepean.

Objectives:
To determine the feasibility of diagnosing the heatlh of individual whole or 'part' embryos prior to transfer using highly sensitive and specific antigen systems.

Achievements:

Infectious bovine rhinotracheitis virus (IBRV) can be associated with blastomeres of early bovine embryos without causing cytopathic effect; therefore, the development of a probe for IBRV for use on early embryos is worthwhile.

Cytopathic strains of bovine viral diarrhea virus can be associated with blastomeres of early bovine embryos without causing cytopathic effect, therefore, the development of a probe for BVDV for use on early embryos is worthwhile.

Preliminary studies on the cryopreservation of zona pellucida-free mouse embryos and bovine demi-embryos were carried out.

The essential equipment for the various procedures associated with molecular cloning was purchased.

Two IBR strains (Colorado and LA) and one infectious pustulo-vaginitis virus (IPV) strain (courtesy of Dr. Evermann, Washington State) of bovine herpes virus 1 (BHV-1) were obtained.

A stock of MDBK cells for growing the virus was prepared and tested for freedom from bacterial, mycoplasma, fungal and yeast contaminants.

Stocks of the Colorado and IPV strains of BHV-1 were prepared for DNA extraction and subsequent restriction endonuclease digestion. These were checked by immunofluoresence and titrated (1×10^7/ml).

The Colorado strain was purified on density gradient to eliminate cellular RNA and DNA contaminants.

Scientists: W.C.D. Hare, A. Bielanski, A.M.P. Bouillant, E.L. Singh.

8597 Neonatal mortality in fox pups.

Location: APL, Sackville.

Objectives:
To identify causes for neonatal fox pup losses over a two-year period and to reduce these losses by making specific recommendations for changing ranch management practices.

Achievements:

Necropsies were carried out on 58 fox pups to determine the cause of death. The most frequent diagnosis was dystocia (21 cases); 15 pups from five litters were classified as abortions; 14 starved. Congenital renal agenesis was noted in two pups.

No bacterial pathogens were isolated from placenta or fetal lungs from three litters. Light to moderate numbers of *Streptococcus spp.*, considered to be significant, were isolated from fetuses from one litter.

From these findings, dystocias followed by abortions and starvations account for most losses.

Scientists: G.G. Finley, J. Lopez, C.L. Simard.

8611 Transmission of leptospiral infection by raw semen.

Location: ADRI, Lethbridge.

Objective:
To determine whether raw semen, derived from a bull shedding *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* in the urine, will infect susceptible cattle.

Achievements:

Between July 30 and October 15, experimental samples were collected from the bull and nine heifers were exposed to raw semen by artificial insemination with no contact with the bull. Four cows housed with the bull were sampled at the time of being housed with the bull and at the end of the trial period. Results so far appear to show infection was transmitted to both groups although no serological titers developed (to *L. hardjo*) in the female of either group.

Scientists: S.P. Gale, B.F. Kingscote.

8614 Cell-mediated immunity to bovine herpesvirus-1.

Location: APL, Saskatoon, University of Saskatchewan and Veterinary Infectious Diseases Organization (VIDO).

Objectives:
To identify sites on bovine herpesvirus-1 glycoproteins that are recognized by immune bovine T-cells. Virus-free reagents (anti-idiotypic antibodies or corresponding peptides) which resemble these sites can then be synthesized and used in diagnostic assays or as vaccines.

Achievements:
Bovine T-cell clones have been generated and their growth requirements are being analyzed. Various assays are in progress to measure the antigen-specificity and function of these clones. In addition, mice have been immunized with bovine T-cell clones for the production of monoclonal antibodies.

Scientists: D.L. Hutchings, in collaboration with M.J.P. Lauman, VIDO, L.A. Babiuk, University of Saskatchewan.

NP2 Relationship of plasmids to virulence in avian salmonellae.

Location: APL, Guelph and the University of Guelph.

Objectives:
To characterize possible virulence-enhancing mechanisms by which virulence plasmids of avian salmonellae affect the avian and mammalian host.

Achievements:
The plasmid profiles, biochemical characteristics, and antibiotic resistance of 172 strains of *Salmonella* derived from avian sources, have been determined.

Resistance of susceptibility to the bactericidal action of guinea pig serum was determined for 117 strains which represented all the plasmid profiles. Strains that were highly serum-resistant in the guinea pig serum bactericidal assay are being assessed for their resistance to the bactericidal activity of serum from chickens.

Virulence studies have been carried out with selected strains by infecting mice and chickens orally and intraperitoneally. Virulence for the avian and mammalian host has been examined in relation to the occurrence of specific plasmids in salmonellae of avian origin. The plasmids in certain highly virulent strains have been tagged and subjected to a number of curing agents. The virulence of the cured strains and the parental strains has been compared.

Scientists: C. Poppe, with the collaboration of C.L. Gyles, University of Guelph.

NP8 Development of ELISA test for the serological diagnosis of Maedi-Visna in sheep.

Location: APL, Sackville.

Objective:
To develop an ELISA test for Maedi-Visna antibody detection which might be more sensitive and specific than the conventional agar gel diffusion test.

Achievements:
Ovine choroid plexus cells (OCP) and fetal lamb lung cells (FLL) inoculated with Maedi-Visna virus were fixed at different times post-inoculated and examined by electron microscope. Both cell cultures yielded viral particles and contaminants not observed in infected or non-infected cell cultures. The titer of inoculum was determined using microtiter plates with OCP and FLL at different time post-inoculation in roller bottles. The titer was higher at three to four days post-inoculation.

To produce Maedi-Visna viral antigen for use in ELISA, the contrifuged harvested supernatant medium was processed by different methods - PEG concentration, ultracentrifugation, sucrose density gradient or chromatography — then treated with ether.

Scientists: C. Simard.

PATENTS

1. **BOUILLANT AMP, NEILSEN K, RUCKERBAUER GM, SAMAGH BS** and **HARE WCD.** "Continuous production of viral antigens". Canadian patent application filed on June 2, 1986. (No. 510-522).

2. **BUNDLE DR, PERRY MB, CHERWONOGRODZKY JW, DUNCAN JR** and **CAROFF MG.** "Identification of *Brucella abortus* and brucellosis infection". September 30, 1986 — patent granted (No 1,212,051).

3. **CHERWONOGRODZKY JW, NIELSEN K, DUNCAN JR, WRIGHT PF, BUNDLE DR** and **PERRY MB.** "Immunoassay for discriminating between brucellosis infections and vaccinations". Canadian patent application filed on September 26, 1986. (No 519 243).

AWARD

CORNER AH (deceased) — Award of Excellence, Public Service of Canada, November 1986. Presented by the Hon. Robert de Cotret, President of the Treasury Board, in recognition of Dr. Corner's contribution to the Canadian canola industry.

EXTERNAL APPOINTMENTS

1. **CHARLTON KM** — Co-editor of volume on rabies in the series "Development in Veterinary Virology"

2. **CORNER AH** (deceased) — Member, Ontario Sheep Research and Services Committee

3. **EAGLESOME MD** — Member, Canadian Council on Animal Care Assessment Panel

4. **HARE WCD** — President, Ottawa Club of Sigma Xi, the Scientific Research Society

5. **HARE WCD** — Member, Import/Export Committee, U.S. Animal Health Association

6. **HARE WCD** — Member, Embryo Movement Subcommittee, U.S. Animal Health Association

7. **HARE WCD** — Chairperson, Program Committee, Symposium on International Movement of Embryos, World Vet. Congress, 1987

8. **HARE WCD** — Member, Site Visit Committee, Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada University-Industry Program

9. **HARE WCD** — Scientific advisor, National Research Council — Industrial Research Assistance Program

10. **MACNEIL JD** — Adjunct professor, Department of Toxicology, University of Saskatchewan

11. **MACNEIL JD** — Member-at-large, Executive, Analytical Division, Chemical Institute of Canada

12. **MESSIER S** — Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal

13. **MESSIER S** — Diplomate, American College of Veterinary Microbiologists

14. **NIELSEN K** — Member, Education Committee, American Association of Veterinary Immunologists

15. **RANDALL GCB** — Auxiliary professor, McGill University

16. **RIGBY CE** — Member, Sub-Committee on Taxonomy of the Brucella, International Committee for Systematic Bacteriology

17. **ROBINSON Y** — Associate professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal

18. **SINGH L** — Program chairperson, Symposium in Embryos and Disease Transmission. International Embryo Transfer Society 1987 Annual Conference

19. **SPENCER JL** — Member, Strategic Grant Review Committee, Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada

20. **SPENCER JL** — Member, Ontario Poultry Research and Services Committee

21. **STEMSHORN BW** — Member, Brucellosis Scientific Advisory Committee, US Animal Health Association

22. **STOCKDALE PHG** — Member, Grant Selection Committee for Animal Biology, Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada

23. **STOCKDALE PHG** — Member, Editorial Board, Canadian Journal of Zoology

24. **TURCOTTE C** — Specialist in Veterinary Microbiology by the National Examining Board of the Canadian Veterinary Medical Association

25. **WRIGHT P** — Consultant for WHO/FAO Brucellosis Enzyme Immunoassay Standardization Study

26. **YATES WDG** — Adjunct professor, Department of Veterinary Pathology, Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan

27. **YATES WDG** — Coordinator, Cross-Canada Disease Report, Canadian Veterinary Journal

28. **YATES WDG** — Review Board, Canadian Journal of Veterinary Research

PUBLICATIONS

1. **AFSHAR A, BUNDZA A, MYERS DJ, DULAC GC, THOMAS FC.** Sheep pox: Experimental studies with a West African isolate. *Can Vet J 1986;* 27: 301-306.

2. **AFSHAR A, DULAC GC.** Immunoperoxidase plaque staining for the detection of pseudorabies virus. *Can J Vet Res* 1986; 50: 118-119.

3. **AFSHAR A, WRIGHT PF, DULAC GC.** Dot-enzyme immunoassay for visual detection of antibodies to pseudorabies virus in swine sera. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 563-567.

4. **AFSHAR A, MYERS DJ.** Simple and rapid dot-enzyme immunoassay for visual detection of rinderpest antibodies in bovine and caprine sera. *Trop Anim Hlth Prod* 1986; 18: 209-216.

5. **AFSHAR A, WRIGHT PF, DULAC GC.** Development and evaluation of an indirect enzyme immunoassay for detection of porcine IgG antibodies to pseudorabies virus. *Can J Vet Res* 1986; 50: 422-426.

6. **AFSHAR A, THOMAS FC, WRIGHT PF, SHAPIRO JL, SHETTIGARA PT, ANDERSON A.** Comparison of competitive and indirect enzyme-linked immunosorbent assays for development of bluetongue virus antibodies in serum and whole blood. Conference of Research Workers in Animal Diseases, 67th Annual Meeting, Chicago, 1986; abstract 118.

7. **BOHAC JG, CHO HJ.** Immunoglobulins, immune complexes and morphology of NCP, BVDV in sera of congenitally infected fetuses. *Proc* 66th Conf CRWAD, Chicago, November 1985.

8. **BOHAC JG.** BVDV infection in the bovine fetus. *Proc* 36th Conf Can Laboratory Workers in An Dis, Ottawa, May 1986.

9. **BOUILLANT AMP.** Parenté des rétrovirus humains lymphotropes et des rétrovirus des grands animaux. *Can Vet J* 1986; 27: 195-203.

10. **BOUILLANT AMP, NIELSEN K, RUCKERBAUER GM, SAMAGH BS, HARE WCD.** The persistent infection of a canine thymus cell line by equine infectious anemia virus and preliminary data on the production of viral antigens. *J Virol Methods* 1986; 13: 309-321.

11. **BROOKS BW, GARCIA MM, FRASER ADE, LIOR H, STEWART RB, LAMMERDING AM.** Isolation and Characterization of cephalothin-susceptible *Campylobacter coli* from slaughter cattle. *J Clin Microbio* 1986; 24: 591-595.

12. **BROOKS BW, ROBERTSON RH, CORNER AH, SAMAGH BS, GARCIA MM, TURCOTTE C, DUNCAN RJ.** Evaluation of the serological reactivity of sheep *Mycobacterium paratuberculosis* by crossed immunoelectrophoreses and immunoblotting. *Proceedings* of the 3rd Northeast Regional Meeting on Paratuberculosis, Ithaca, NY, 1986.

13. **BUNDLE DR, PERRY MB, CHERWONOGRODZKY JW.** The structure and serology of the A and M antigens of *Brucella abortus* and *B. melitensis*. Conference of Research Workers in Animal Disease, Chicago 1986; abstract 95.

14. **CHARLTON KM, WEBSTER WA, CASEY GA, RHODES AJ, LAWSON KF.** Recent advances in rabies diagnosis and research. *Can Vet J* 1986; 27: 85-89.

15. **CHERWONOGRODZKY JW, BUNDLE DR.** Mouse monoclonal antibodies as substitutes for rabbit monospecific anti-*Brucella* antisera. Canadian Society of Microbiologists, Toronto, 1986; abstract VM 3p.

16. **CHERWONOGRODZKY JW, PERRY MB, BUNDLE DR.** Purification of O-chain polysaccharide from *Brucella abortus* 1119-3 and lipopolysaccharide from *B. melitensis* 16M. Canadian Society of Microbiologists, Toronto, 1986; abstract VM1p.

17. **CHERWONOGRODZKY JW, PERRY MB, BUNDLE DR.** The use of monoclonal antibodies for the differentiation of *Brucella abortus* and cross-reacting organisms. Canadian Society of Microbiologists, Toronto, 1986; abstract VM 2p.

18. **CHERWONOGRODZKY JW, PERRY MB, BUNDLE DR.** Purification and characterization of *Brucella melitensis* 16M lipopolysaccharide. American Society of Microbiology, Washington, DC, 1986; abstract B186.

19. **CHERWONOGRODZKY JW, PERRY MB, BUNDLE DR.** Characterization of poly-B from *Brucella* and the use of *Brucella abortus* 1119-3 O-chain to differentiate sera of vaccinated or infected cattle. Conference of Research Workers in Animal Disease, Chicago, 1986; abstract 96.

20. **CHERWONOGRODZKY JW, WRIGHT, PF, NIELSEN K, PERRY MB, BUNDLE DR.** Comparison of four antigens in an enzyme immunoassay (EIA) for detection of bovine brucellosis. Fed Am Soc Expt Biol (abstract) 1986.

21. **CHO HJ.** Antibody to scrapie-associated fibril protein identifies a cellular antigen. *J Gen Virol* 1986; 67: 243-253.

22. **CHO HJ, JERICHO KWF.** Induction of immunity against pneumonic pasteurellosis following experimental infection in calves. *Can J Vet Res* 1986; 50: 27-31.

23. **CLARKE RC, GYLES CL.** *Salmonella*. In: Pathogenesis of bacterial infections in animals. C.L. Gyles and C. Thoen eds. Iowa State University Press, 1986; 95-109.

24. **CLARKE RC, GYLES CL.** Galactose epimaraseless mutants of *Salmonella typhimurium* as live vaccines for calves. *Can J Vet Res* 1986; 50: 165-173.

25. **CLARKE RC, GYLES CL, VAN DREUMEL A.** Pathogenesis of acute experimental salmonellosis in calves. *IVth* Int Sym of World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians June 2-6, 1986. Amsterdam.

26. **DARCEL C LE Q, KALDY MS.** Further evidence for the heterogeneity of serum albumin. Comp Biochem Physiol., 1986; 85: 15-22.

27. **DICK TA, KINGSCOTE B, STRICKLAND MA, DOUGLAS CW.** Sylvatic trichinosis in Ontario, Canada. *J Wildlife Dis*, 1986; 22: 42-47.

28. **DOHOO IR, WRIGHT PF, RUCKERBAUER GM, SAMAGH BS, ROBERTSON FJ, FORBES LB.** A comparison of five serological tests for bovine brucellosis. *Can J Vet Res* 1986; 50: 485-493.

29. **EAGLESOME MD, GARCIA MM.** The effects of *Mycoplasma bovis* on the preparation of bull spermatozoa into zona-free hamster ova. *Proceedings* of the 36th Annual Meeting of the Can Soc of Microbiologists, Toronto, 1986.

30. **EAGLESOME MD, GARCIA MM, HARKINS CF, ALEXANDER FCM.** Vaccination studies for the control of campylobacteriosis in Jamaican cattle. *Vet Record 1986;* 119: 299-301.

31. **FINLAY RC, MANN ED, HORNING JL.** Prevalence of *Salmonella* and campylobacter contamination in Manitoba swine carcasses. *Can Vet J* 1986; 27: 185-187.

32. **FRASER ADE, RIGBY CE.** Conjugation-mediated genetic exchange in *Brucella abortus*. Canadian Society of Microbiologists 36th Annual Meeting, Toronto, 1986; abstract VM 3p.

33. **GARCIA MM, BUNDZA A, KOKOSKIN-NELSON E, BECKER SAWE, BOUFFARD A.** *Fusobacterium necrophorum* in a case of bovine pneumonia. *Proceedings* of the 36th Annual Meeting of the Can Soc Microbiologists, Toronto, 1986.

34. **GARCIA MM, TRUSCOTT RB, MCLAREN J, STEWART RB, KINGSCOTE B, BURCHAK J.** Absence of *Mycoplasma bovis* in unprocessed frozen bull semen from Canadian Artificial Insemination Centres, *Vet Record* 1986; 119: 11-12.

35. **GAVORA JS, SIMONSEN M, SPENCER JL, FAIRFULL RW, GOWE RS.** Changes in the frequency of major histocompatibility haplotypes in chickens under selection for both high egg production and resistance to Marek's disease. *J Animal Breedg Genet* 1986; 103: 218-226.

36. **HARE WCD.** BVD virus infection and embryo transfer. *Vet Rec* 1986; 118:544.

37. **HENNING MD, NIELSEN KH.** Peroxidase labelled monoclonal antibody for use in enzyme immunoassay. Conf Res Workers Animal Dis., Chicago, 1986 (abstract).

38. **JERICHO KWF.** Pathogenesis of *Mycoplasma* pneumonia of swine. Letter to the Editor, *Can J Comp Med,* 1986; 50: 136-137.

39. **JERICHO KWF, LEJEUNE A, TIFFIN GB.** Bovine herpesvirus-1 and *Pasteurella haemolytica* aerobiology in experimentally infected cattle. *Am J Vet Res* 1986; 47: 205-209.

40. **KINGSCOTE BF.** Leptospirosis in red foxes in Ontario. *J Wildlife Dis* 1986; 22: 475-478.

41. **KINGSCOTE BF.** Leptospirosis outbreak in a piggery in Southern Alberta. *Can Vet J* 1986; 188-190.

42. **KINGSCOTE BF.** Leptospirosis: An occupational hazard to veterinarians. *Can Vet J* 1986; 27: 78-81.

43. **KINGSCOTE BF, BOHAC JG.** Antibodies to bovine bacterial and viral pathogens in pronghorns in Alberta, 1983. *J Wildlife Dis* 1986; 22: 511-514.

44. **MACNEIL JD, HIKICHI M.** Phosmet residues in an orchard and adjacent recreational area. *J Environ Sci Health* 1986; B21: 375-385.

45. **MCVICAR JW, SINGH EL, MEBUS CA, HARE WCD.** Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. VIII. Failure to detect foot-and-mouth disease viral infectivity associated with embryos collected from infected donor cattle. *Theriogenology* 1986; 26: 955-601.

46. **MANN ED, SEKLA LH.** Cryptosporidiosis in Manitoba. *Can Med Ass J* 1986; 135:1072.

47. **MANN ED, SEKLA LH, NAYAR GPS, KOSCHIK C.** Infection with *Cryptosporidium spp.* in humans and cattle in Manitoba. *Can J Vet Res* 1986; 50: 174-178.

48. **MARTIN SW, BOHAC JG.** The association between serological titers in infectious bovine rhinotracheitis, bovine virus diarrhea virus, parainfluenza-3 virus, respiratory syncytial virus and treatment for respiratory disease in Ontario feedlot calves. *Can J Vet Res* 1986; 50: 351-358.

49. **NIELSEN KH, STEWART RB, GARCIA MM, EAGLESOME MD.** Enzyme immunoassay for detection of *Mycoplasma bovis* in bovine semen. Can Soc Microbiol Ann. Meet., Toronto, 1986 (abstract).

50. **NIELSEN KH, DUNCAN JR.** Bovine IgM does not fix complement. Int Vet Immunol Symp Guelph, 1986 (abstract).

51. **NIELSEN KH, WRIGHT PF, KELLY W, SUGDEN E, GALL D, DUNCAN JR.** Enzyme immunoassay (EIA) standardization for large scale diagnostic serology — an approach. Int Vet Immunol Symp., Guelph, 1986 (abstract).

52. **NIELSEN KH, TURCOTTE C, SAMAGH BS, SUGDEN E, CORNER AH, DUNCAN JR.** LAM — EIA for paratuberculosis. Int Vet Immunol Symp., Guelph, 1986 (abstract).

53. **NIELSEN KH.** A method for preparation of IgA from bovine mammary secretions. Fed Am Soc Exptl Biol, St. Louis, 1986 (abstract).

54. **NIELSEN KH, DUNCAN JR.** Does bovine IgM fix guinea pig complement? 36th Conf Can Res Workers Animal Dis, Nepean, 1986 (abstract).

55. **NIELSEN KH, HENNING D, DUNCAN JR.** Use of monoclonal antibodies in paratuberculosis serodiagnosis. 3rd NE Reg Meet Paratuberculosis, Ithaca, 1986 (abstract).

56. **NIELSEN KH, CHERWONOGRODZKY J, DUNCAN JR.** An enzyme immunoassay for the differentiation of the antibody response of cattle vaccinated or infected with *Brucella abortus.* Conf Res Workers Animal Dis., Chicago, 1986 (abstract).

57. **NIELSEN K.** Preparation of IgA from bovine mammary secretions. *Can J Vet Res* 1986; 50: 227-231.

58. **NIELSEN KH, WRIGHT PF, KELLY W, CHERWONOGRODZKY J.** *Brucella spp.* In: Methods of Enzymatic Analysis (HU Bergmeyer, ed.) Verlag Chemie, Weinheim, 1986; Vol. 11, pp 152-160.

59. **NIELSEN KH, HENNING MD, DUNCAN JR.** Monoclonal antibodies in veterinary medicine. Biotech Genet Eng Rev (GE Russell ed.) Intercept Ltd., Newcastle-upon-Tyne. 1986; Vol. 4, pp 311-353.

60. **NIILO L, MCDONALD DW, GODKIN GF, STONE MW.** Ovine brucellosis in Alberta. *Can Vet J* 1986; 27: 245-249.

61. **NIILO L.** Experimental production of hemorrhagic enterotoxemia by *Clostridium perfringens* Type C in maturing lambs. *Can J Comp Med,* 1986; 50: 32-35.

62. **PERRY MB, BUNDLE DR, CHERWONOGRODSKY JW.** The structure and serology of the A and M antigens of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* and the structure of polysaccharide B of *Brucella* species. The 14th International Congress on Microbiology, Manchester, England, 1986; abstract P67-4.

63. **PRINS L, YATES WDG.** Rabies in western Canada 1978-1984. *Can Vet J* 1986; 27: 164-169.

64. **RANDALL GCB.** Physiology of late pregnancy and parturition in swine. In: Current therapy in theriogenology 2, Ed. D.A. Morrow, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986.

65. **RANDALL GCB.** Chronic implantation of catheters and other surgical techniques in fetal pigs in Swine. In: B.S. Medical Research. Ed. M.E. Tumbleson, Vol. 11, pp. 1179-1186, Plenum Publishing, New York, 1986.

66. **RANDALL GCB, TAVERNE MAM, CHALLIS JRG, KENDALL JZ, TSANG BK.** Interrelationships between endocrine changes in peripheral and uterine venous blood and uterine activity at parturition in the pig. *Anim Reprod Sci* 1986; II, 283-294.

67. **RANDALL GCB, TSANG BK.** Influence of the fetal pituitary adrenal axis on fetal and maternal progesterone and unconjugated oestrogen concentrations in the pig. *J Reprod Fertil* 1986; 78: 65-72, 1986.

68. **RIGBY CE, FRASER ADE.** Introduction, maintenance and transfer of broad-host-range plasmids in *Brucella abortus.* 67th Annual Meeting of the Conference of Research Workers in Animal Diseases, Chicago, 1986; abstract 1.

69. **SINGH EL, MCVICAR JW, HARE WCD, MEBUS CA.** Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. VII. The in vitro exposure of bovine and porcine embryos to foot-and-mouth disease virus. *Theriogenology* 1986; 26: 587-593.

70. **SINGH EL.** Possibilities of disease transmission via embryos. *Proceedings* of the 5th Annual Convention of the American Embryo Transfer Association 1986; pp. 55-61.

71. **SMITH HJ.** Transmission of *Sarcoptes scabiei* in swine by fomites. *Can Vet J* 1986; 27: 252-254.

72. **SMITH HJ.** Field manual for the investigation and diagnosis of exotic protozoan diseases and anaplasmosis in Canada, 1986.

73. **TESSARO BV, FORBES LB.** *Brucella suis* biotype 4: A case of granulomatous nephritis in a barren ground caribou (*Rangifer tarandus groenlandicus* L.) with a review of the distribution of rangiferine brucellosis in Canada *J Wildl Dis* 1986; 22: 479-483.

74. **THIERMANN AB, HANDSAKER AL, FOLEY AW, WHITE FH, KINGSCOTE BF.** Reclassification of North American leptospiral isolates belonging to serogroups mini and sejroe by restriction endonuclease analysis. *Am J Vet Res.* 1986; 47: 61-68.

75. **THOMAS FC, RANDALL GCB, MYERS DJ.** Attemps to establish congenital bluetongue virus infections in calves. *Can J Vet Res* 1986; 50, 280-281.

76. **TOLSON N, CHARLTON K, WIKTOR T.** Immune response to a vaccinia virus recombinant expressing the rabies virus glycoprotein. Fifth International Conference on Comparative Virology, Lake Louise, Alberta, 1986 (abstract).

77. **SUGDEN EA, SAMAGH BS, BUNDLE DR, DUNCAN JR.** Phenol-water extracted lipoarabinomannan and arabinomannan antigens from *Mycobacterium paratuberculosis.* American Soc of Micro, 86th Annual Meeting, Washington, DC; p. 119, 1986.

78. **SUGDEN EA, SAMAGH BS, CORNER AH, TURCOTTE C, BROOKS BW, STEWART RB, DUNCAN JR.** Serodiagnosis of ovine paratuberculosis using lipoarabinomannan antigen in an enzyme immunoassay. *Proc.* of Fourth Int'l Conf of Vet Lab Diag, Amsterdam, The Netherlands, 1986.

79. **SHEPPARD JW, WRIGHT PF, deSAVINGY DH.** Methods for evaluation of EIA tests for use in detection of seedborne pathogens. *Seed Sci. Technol.* 1986: 14:49-59.

80. **WEBSTER WA, CASEY GA, CHARLTON KM.** Major antigenic groups of rabies virus in Canada determined by anti-nucleocapsid monoclonal antibodies. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 1986; 9: 59-69.

81. **WRIGHT PF, NIELSEN KH.** Application of enzyme immunoassay in veterinary medicine. In: Non-isotopic Immunoassay. TT Ngo ed. Plenum Publishing Corp., New York (in press).

82. **WRIGHT PF, NIELSEN N.** Comparison of monoclonal (Mc) and polyclonal (Pc) antiglobulins in an enzyme immunoassay (EIA) for detection of bovine brucellosis. Fed Am Soc Expt Biol (abstract) 1986.

83. **WRIGHT PF, GALL DEJ, KELLY MA.** Quantitative data expression of bovine anti-*Brucella* antibody activity in the direct enzyme immunoassay (EIA) 1st Int Vet Immunol Symp (abstract) 1986.

84. **WRIGHT PF, NIELSEN K.** Comparison of polyclonal and monoclonal antiglobulins in the indirect enzyme immunoassay (EIA) for diagnosis of bovine brucellosis. 1st Int Vet Immunol Symp (abstract) 1986.

85. **WRIGHT PF, GALL DEJ, KELLY WA.** Quantitative expression of anti-*Brucella* antibody activity in the enzyme immunoassay. 39th Annual Brucellosis Research Conf (abstract) 1986.

TESTS AVAILABLE

Disease/Microorganism	*Test*	SACKVILLE	ST. HYACINTHE	NEPEAN	GUELPH	WINNIPEG	SASKATOON	LETHBRIDGE	RICHMOND
Anaplasmosis	CF			x					
Anthrax	Culture			x				x	x
	Histology			x					
African Swine Fever	AGID			x					
	CIE			x					
	FA			x					
	IFA			x					
Avian Encephalomyelitis	FA	x							
	AGID	x							
Avian Influenza	AGID			x					
	HI			x					
	Histology			x					
	Isolation			x					x
	Necropsy			x					
Avian Reovirus	AGID	x							
Bacillus cereus	Culture		x		x	x			x
Bluetongue	AGID			x				x	x
	CF			x				x	
	EM			x					
	Isolation			x					
	PN			x					
	SN			x					
Bovine Leukosis	AGID			x				x	
Brucellosis	Biotyping			x			x		
	BPAT	x	x	x	x	x	x	x	x
	BRT	x	x	x	x	x	x	x	x
	CF			x			x	x	
	Culture			x			x	x	x
	ELISA	x	x	x	x	x	x	x	x
	Histology			x				x	
	Necropsy			x					
	SPAT			x	x	x	x		x
	STAT	x	x	x	x	x	x	x	x
Bovine Virus Diarrhea	FA	x		x				x	
	Isolation	x		x				x	
	SN	x		x				x	
Campylobacter	Culture	x	x	x	x	x		x	x
	FA	x	x	x	x			x	x
	VMA			x				x	x
Caprine Arthiritis-Encephalitis	AGID	x							

		SACKVILLE	ST. HYACINTHE	NEPEAN	GUELPH	WINNIPEG	SASKATOON	LETHBRIDGE	RICHMOND
Chlamydiosis	CF			x					
	Histology			x					
	Isolation	x		x					
	Necropsy			x					x
	Smears	x		x					x
Clostridium perfringens	FA							x	
	Culture	x	x		x	x			x
Contagious Equine Metritis	CF			x					
	Culture			x					x
Coronavirus	FA	x							
Cysticercosis	Histology	x		x					
	Parasitology	x							
Dourine	CF			x					
Enzootic Abortion of Ewes	Smears	x							x
Eperythrozoon	IHA			x					
Epizootic Hemorrhagic Disease	AGID			x					x
	CF			x					
	EM			x					
	Isolation			x					
	PN			x					
	SN			x					
Equine Arteritis	CF			x					
	SN			x					
Equine Encephalomyelitis	CF			x					
	Isolation			x					
Equine Infectious Anemia	AGID	x		x	x	x		x	x
Equine Influenza	HI	x							
Equine Paratyphoid	Tube Agg			x					
Equine Rhinopneumonitis	SN			x					
Escherichia coli 0157:H7	Culture		x		x				
Hemophilus hyopneumoniae	CF			x					
Glanders	CF			x					
	Culture			x					
Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus	HI	x		x					
	SN			x					
Hog Cholera	CF			x					
	FA			x					
	Histology			x					
	IFA			x					
	Isolation			x					
	SN			x					

		SACKVILLE	ST. HYACINTHE	NEPEAN	GUELPH	WINNIPEG	SASKATOON	LETHBRIDGE	RICHMOND
Infectious Bovine Rhinotracheitis	Elisa							x	
	FA	x		x					
	Isolation	x		x				x	
	SN	x		x				x	
Infectious Bronchitis	HI	x							
	SN	x		x					
Infectious Bursal Disease	AGID	x							
	SN	x							
Infectious Laryngotracheitis	FA	x							
	Isolation								x
	SN	x							
Leptospirosis	Culture			x				x	
	FA							x	
	VMA			x				x	
Maedi-Visna	AGID	x							
Mange	Identification	x				x		x	x
Mastitis	Culture			x					
Mycoplasma / Ureaplasma	Agg			x					
	CF			x					
	Culture	x		x				x	
Newcastle Disease	HI	x		x					x
	Histology			x					
	Isolation	x		x					x
	Necropsy			x					
Parainfluenza-3 virus	FA	x							
	HA							x	
	HI	x		x				x	
Paratuberculosis	AGID			x					
	CF			x				x	
	Culture			x					
	Histology			x					
	Smears								x
Porcine Influenza	HI			x					
	Isolation			x					
Porcine Parvovirus	FA	x							
	HI	x		x					
	Isolation			x					
Piroplasmosis	CF			x					

		SACKVILLE	ST. HYACINTHE	NEPEAN	GUELPH	WINNIPEG	SASKATOON	LETHBRIDGE	RICHMOND
Pseudorabies	ELISA			x		x			
	FA			x					
	Histology			x					
	Isolation			x					
	SN			x					
Pullorum/typhoid	Tube agg								x
	Culture					x			x
Q Fever	CF			x					
Rabies	FA			x				x	
	Histology			x					
	MIT							x	
	Necropsy			x					
	TCT			x					
Rotavirus	FA	x							
Respiratory Syncytial Virus	CF							x	
	Isolation							x	
	SN							x	
Salmonella	Culture	x	x	x	x	x			x
	Serotyping					x			
Scrapie	Histology			x				x	
Staphylococcus aureus	Enterotoxin				x				
Streptococcus	Lancefields grouping				x				
Teschen Disease	SN			x					
Transmissible Gastroenteritis	FA	x							
	Isolation			x					
	SN	x		x				x	
Toxoplasmosis	CF			x					
Trichinosis	Digestion	x							x
	ELISA	x							
	Histology	x							x
Trichomonas	Culture	x	x	x	x			x	x
	Micro exam							x	
Tuberculosis	Culture			x					
	Histology			x				x	
	Smears	x		x					x
Vesicular Diseases	CF			x					
	EM			x					
	Histology			x					
	Isolation			x					
	SN			x					

		SACKVILLE	ST. HYACINTHE	NEPEAN	GUELPH	WINNIPEG	SASKATOON	LETHBRIDGE	RICHMOND
Various	Culture	x		x				x	x
	Culture-Hatchery Sanitation					x			x
	EM			x					
	Histology	x		x			x	x	
	Virus Isolation	x		x					
	Necropsy	x		x			x		
	Parasitology	x						x	x
	Bacterial Profiles on Meat Products	x	x		x	x			x
	Water Activity Determination				x				
	Species Verification of Raw Meat			x					x
	Chick Embryo Lethal Agents								x

Testing for residues in meat products is conducted at the Saskatoon laboratory:

Residue	Test	Residue	Test
Antibiotics	TLC/BA	Nitrofurans	HPLC
Carbadox	GC	PCB, PCP	GC
Chloramphenicol	GC	Pesticides	GC
Clopidol	GC	Sulfa	TLC, GC, MS
Heavy Metals	AA	Tetracyclines	HPLC
Ivermectin	HPLC	Zeranol	HPLC, TLC, GC, MS
Melengestrol acetate	GC		

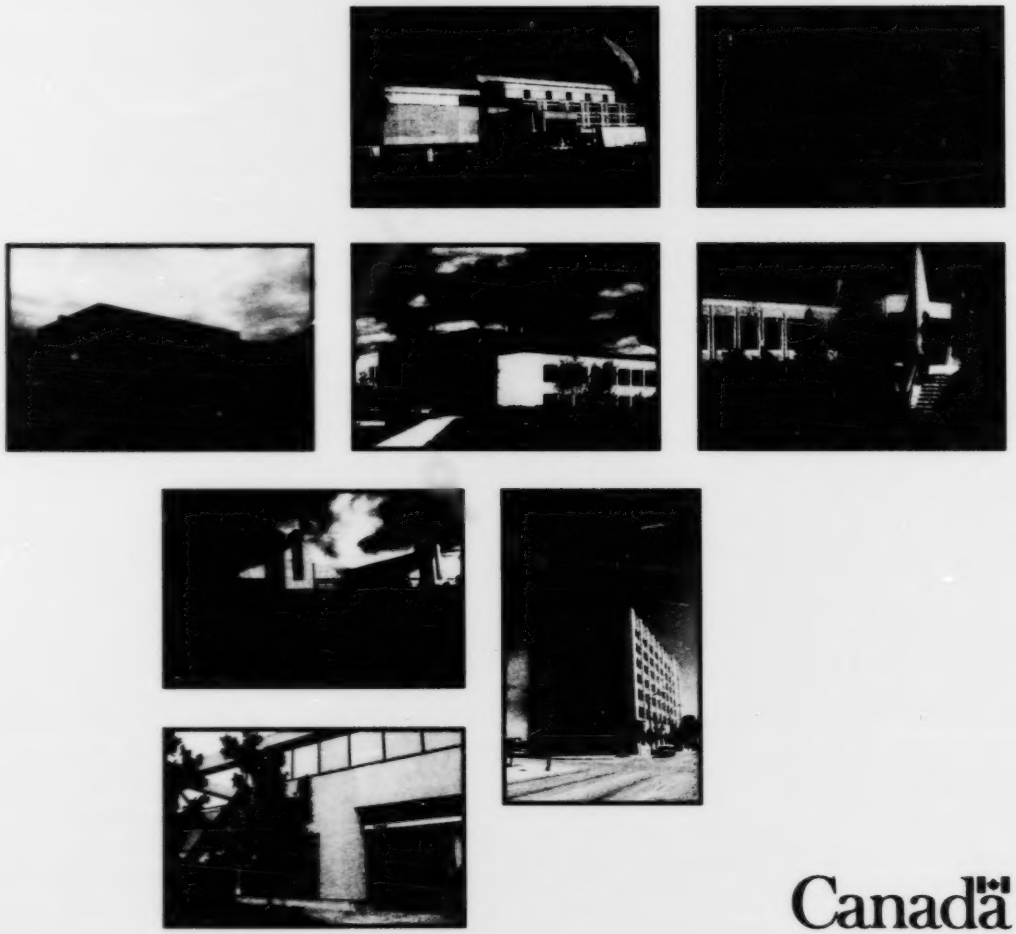
TEST ABBREVIATIONS KEY

AA	atomic absorption
AGID	agar gel immunodiffusion
Agg	agglutination
BAPT	buffered antigen plate agglutination test
BRT	brucellosis milk ring test
CIE	countercurrent immunoelectrophoresis
CF	complement fixation
ELISA	enzyme immunoassay
EM	electron microscopy
FA	fluorescent antibody
GC	gas chromatography
HA	hemagglutination
HI	hemagglutination inhibition
HPLC	high-performance liquid chromatography
IFA	indirect fluorescent antibody
IHA	indirect hemagglutination
MA	microagglutination
Micro exam	microscopic examination
MIT	mouse inoculation test
MS	mass spectrophotometry
PN	plaque neutralization
RIA	radio immunoassay
SN	serum neutralization
SPAT	serum plate agglutination test
TCT	tissue culture test
TLC	thin layer chromatography
TLC/BA	thin layer chromatography/bioautography
STAT	standard tube agglutination test
VMA	vaginal mucus agglutination

Agriculture
Canada

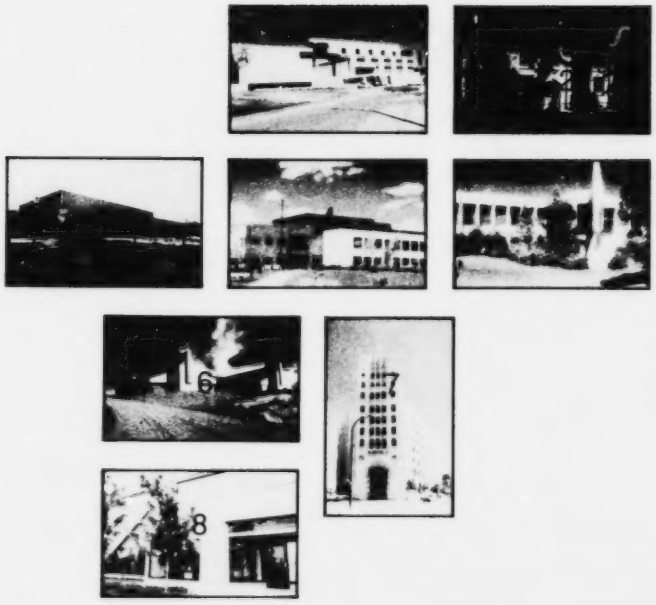
Division de la pathologie vétérinaire

Aperçu général 1986



Canada

un coup
de pousse



1. Institut de recherches vétérinaires, Nepean, Ontario
2. Laboratoire de pathologie vétérinaire, Sackville, Nouveau-Brunswick
3. Laboratoire de pathologie vétérinaire, St-Hyacinthe, Québec
4. Laboratoire de pathologie vétérinaire, Guelph, Ontario
5. Laboratoire de pathologie vétérinaire, Saskatoon, Saskatchewan
6. Institut de recherches vétérinaires, Lethbridge, Alberta
7. Laboratoire de pathologie vétérinaire, Winnipeg, Manitoba
8. Laboratoire de pathologie vétérinaire, Richmond, Colombie-Britannique

AGRICULTURE CANADA

DIVISION DE LA PATHOLOGIE VÉTÉRINAIRE

APERÇU GÉNÉRAL

1986

Division de la pathologie vétérinaire
Halldon House, 4e étage
2255, avenue Carling
Ottawa, Ontario
Canada
K1A 0Y9

Tél.: (613) 995-5433

Télex: 053-3283

©Ministre des Approvisionnements et Services Canada 1987
N° de cat. A61-12/1986 ISBN: 0-662-55355-1
Impression 1987 1.5M-8:87

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS / 3

ORGANIGRAMME / 4

SERVICES DE DIAGNOSTIC / 5

APPLICATION DE LA BIOTECHNOLOGIE À LA DIVISION / 6

PERSPECTIVES OFFERTES PAR LES ÉPREUVES IMMUNOENZYMATIQUES / 7

SÉCURITÉ AU LABORATOIRE / 7

LABORATOIRES / 8

- — Laboratoire de pathologie vétérinaire/Sackville 8
- — Laboratoire de pathologie vétérinaire/St-Hyacinthe 9
- — Institut de recherches vétérinaires/Nepean 9
- — Laboratoire de pathologie vétérinaire/Guelph 12
- — Laboratoire de pathologie vétérinaire/Winnipeg 12
- — Laboratoire de pathologie vétérinaire/Saskatoon 13
- — Institut de recherches vétérinaires/Lethbridge 14
- — Laboratoire de pathologie vétérinaire/Richmond 15
- — Station expérimentale de Grosse-Île 15

PROJETS DE RECHERCHE / 16

BREVETS / 34

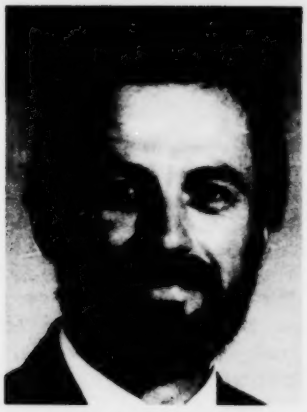
PRIX / 34

NOMINATIONS / 34

PUBLICATIONS / 35

ÉPREUVES DISPONIBLES / 38

LISTE D'ABRÉVIATIONS DES ÉPREUVES DIAGNOSTIQUES / 43



AVANT-PROPOS

Cette année, l'Aperçu général de la Division de la pathologie vétérinaire fait état des événements qui ont ponctué la dernière année civile, 1986, et non l'année financière, comme ce fut le cas de nos deux publications antérieures. Bien que cela fasse moins d'un an que j'ai exposé notre situation dans l'avant-propos, la Division a subi de nombreux changements et je suis heureux de saisir cette occasion de rendre compte des immenses progrès accomplis.

Notre Division a vu l'aboutissement de nombreuses années de planification et de travaux à deux chantiers. En juillet, notre personnel de Guelph a déménagé dans un nouveau laboratoire et, à la fin de l'année, il semblait confortablement installé dans ce bâtiment ultra-moderne et très bien équipé. Ce laboratoire, dont la conception tient compte de l'orientation future de la recherche, comprend des installations d'isolement qui se prêtent aux travaux sur l'ADN recombiné et les micro-organismes très virulents. En décembre, le personnel de Saint-Hyacinthe est entré dans de vastes installations nouvelles qu'il partagera avec la Direction de l'inspection vétérinaire. Là encore, ce bâtiment a été conçu en fonction du rôle futur du laboratoire; il est équipé pour devenir un centre de recherches sur le porc et de diagnostic des maladies porcines dans la province de Québec.

Pour la prochaine année, nos plans prévoient la mise en opération d'un nouveau laboratoire à Lethbridge en Alberta, dont la construction devrait être terminée à l'automne 1987. De plus, nous essayons présentement de faire approuver le déménagement de notre laboratoire des provinces de l'Atlantique, actuellement à Sackville au Nouveau-Brunswick, non loin du Collège de médecine vétérinaire de l'Atlantique récemment construit à l'Île-du-Prince-Édouard.

Le Dr Bob Sellers occupe temporairement le poste de directeur associé à la recherche et s'acquitte admirablement bien de ses nouvelles fonctions. L'Examen de la gestion du programme de recherches, réalisé l'an dernier, a fait ressortir la nécessité d'une collaboration plus étroite avec les provinces, les universités et le secteur privé. Nous avons étudié les possibilités d'une telle collaboration, et avons convenu, suite à une recommandation faite par le Comité d'experts de la santé des animaux, de procéder à une étude pour déterminer la prévalence et l'importance économique de la paratuberculose en Ontario. Nous entreprenons ce projet en collaboration avec le ministère ontarien de l'Agriculture et de l'Alimentation et avec l'Université de Guelph.

Dans le domaine des services diagnostiques, nous poursuivons deux projets qui profiteront de la technologie de pointe. Comme je l'ai mentionné l'an dernier, le système de contrôle des échantillons du laboratoire est une méthode informatisée qui permet de suivre les échantillons soumis à l'analyse et les résultats obtenus. Bien qu'il soit encore à l'étape du développement, ce système devrait bénéficier autant au personnel de terrain qu'aux concepteurs des politiques, qui doivent pouvoir compter sur des statistiques sûres. L'autre projet est l'utilisation de l'épreuve immunoenzymatique (ELISA) pour le diagnostic de diverses maladies. Chaque laboratoire a l'équipement voulu pour faire cette analyse, et le personnel utilise comme modèle la brucellose pour se familiariser à cette technique délicate. L'ELISA offre l'avantage de se prêter à l'automatisation, à un meilleur contrôle de la qualité et à une plus grande uniformisation.

A l'Institut de recherches vétérinaires (I.R.V.) de Nepean, on se sert maintenant d'une nouvelle technique très efficace qui permet de confirmer le diagnostic de la rage en quatre ou cinq jours plutôt qu'entre quinze et trente jours, comme auparavant. De plus, cette nouvelle épreuve sur culture de tissu ne nécessite pas l'utilisation de souris de laboratoire, répondant ainsi à un objectif de la Division qui est d'employer des méthodes *in vitro* dans la mesure du possible.

Cette année, notre laboratoire de pathologie vétérinaire à Winnipeg a mis en place un service de sérotypage des isolats non humains de *Salmonella*. Ce service cherche surtout à répondre aux besoins de la Direction générale de la production et de l'inspection des aliments. Le laboratoire de Winnipeg a également été désigné comme le centre de traitement des échantillons recueillis pour la sérosurveillance de différentes espèces. Actuellement, nous recueillons des échantillons en vue de l'établissement d'une banque de sérum bovin et entreposerons jusqu'à huit aliquots de chacun. Cette banque contiendra le sérum de 15 000 animaux et constituera une précieuse source d'information pour la conduite d'enquêtes nationales et régionales statistiquement valides.

Une nouvelle Sous-section de l'évaluation des produits biologiques a été formée à l'I.R.V. de Nepean. Le service de typage de sang de chevaux et de bovins a été retiré du ministère de l'Agriculture du Canada pour être confié à des laboratoires qui ont été choisis par les secteurs respectifs. Cette mesure répond aux efforts de privatisation et de réduction des dépenses de l'État. Elle offre l'avantage supplémentaire de permettre aux secteurs de mieux orienter l'avenir du typage sanguin au Canada.

Au printemps dernier, la Division a été l'hôte de la 36e Conférence canadienne du personnel des laboratoires de maladies animales et de la 39e Conférence canadienne sur les maladies de la volaille qui se sont déroulées à l'I.R.V. de Nepean. Cette année aussi, nous avons ajouté au cours sur les maladies animales exotiques, qui se donne chaque année à la Station expérimentale de Grosse-île, une semaine de conférences qui ont été données à l'I.R.V. Ce cours a eu lieu dans le cadre du programme d'études supérieures offert aux non résidents par le Collège de médecine vétérinaire de l'Ouest.

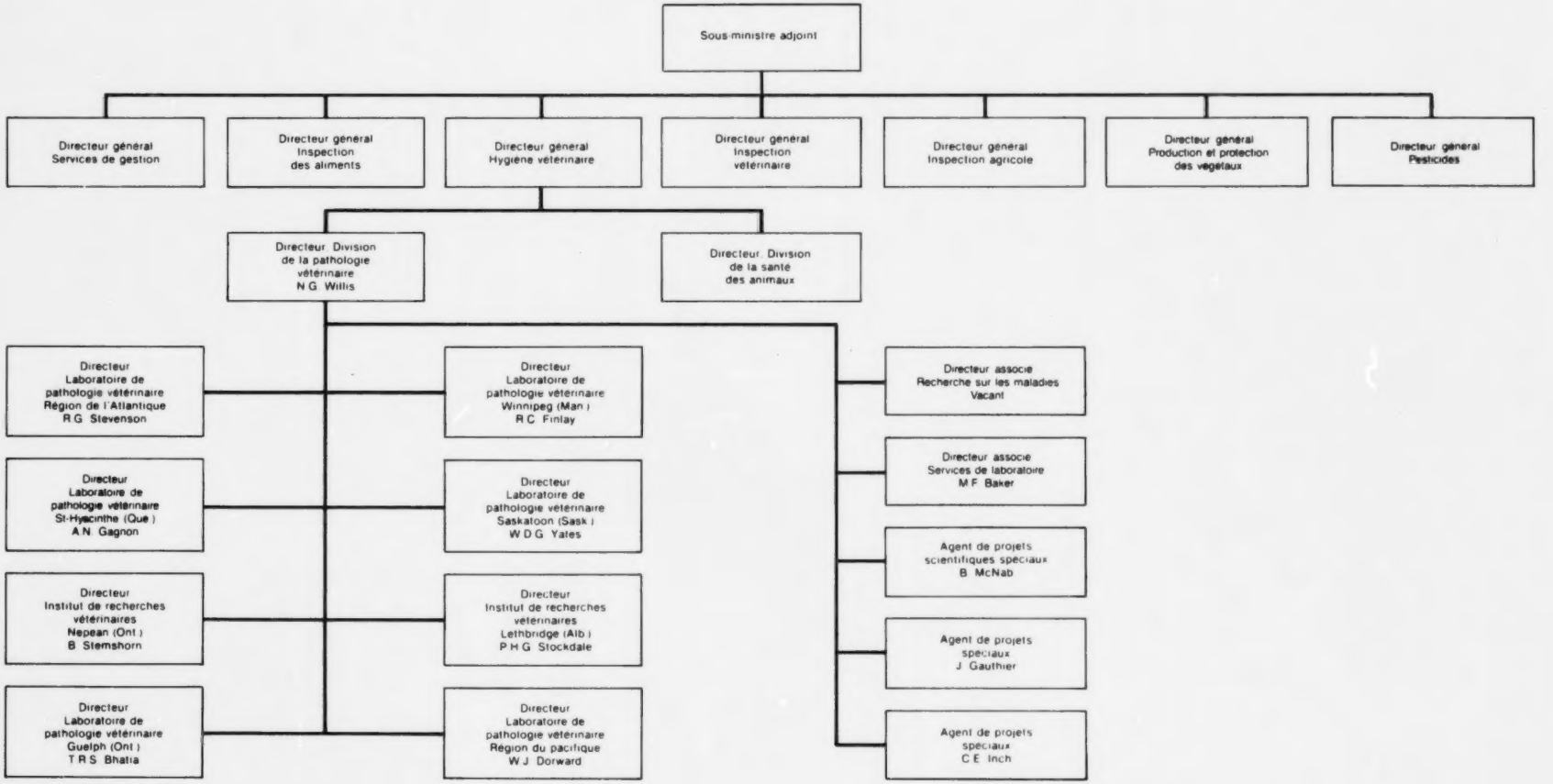
Les efforts que nous consacrons à la formation universitaire supérieure ont été récompensés cette année par la remise d'un doctorat au Dr S. Messier et d'un diplôme de maîtrise au Dr E. Mann. Six membres de la Division poursuivent actuellement des études de deuxième ou de troisième cycles à divers établissements d'enseignement.

Cette année, notre Division a réussi à atteindre beaucoup de ses objectifs et cela grâce au dévouement de son personnel et à l'imagination dont il a fait preuve devant les nombreux défis qui se posaient à lui.

Félicitations à tous.

N.G. Willis
Directeur

DIRECTION GÉNÉRALE DE LA PRODUCTION ET DE L'INSPECTION DES ALIMENTS



SERVICES DE DIAGNOSTIC

Les huit laboratoires de la Division appuient les programmes nationaux de santé des animaux et d'hygiène des viandes en offrant des services diagnostiques dans les domaines de la sérologie, de la bactériologie, de la virologie, de la pathologie, de la parasitologie et de la chimie.

Les services de soutien au Programme national de santé des animaux consistent notamment en la réalisation d'épreuves de diagnostic et d'examens nécessaires au diagnostic des maladies indigènes et exotiques dont la déclaration est obligatoire aux termes de la Loi sur la protection et les maladies des animaux. Il y en a parmi celles-ci pour lesquelles un programme de lutte est en place. C'est par exemple le cas de la tuberculose bovine, de la trichinose, de la rage, de la cysticercose bovine et de l'anémie infectieuse équine.

Pour protéger le cheptel canadien contre l'introduction de maladies exotiques, il faut accorder une attention toute particulière à l'aptitude à diagnostiquer ces maladies. Il faut procéder aux tests appropriés sur les animaux importés pour s'assurer que les résultats sont négatifs avant de mettre fin à la quarantaine. Il faut également enquêter rapidement sur les maladies apparaissant dans les troupeaux canadiens et qui présentent des signes cliniques ressemblant à ceux des maladies exotiques. Afin de poser un diagnostic définitif dans un tel cas, un laboratoire à sécurité maximale de l'Institut de recherches vétérinaires, situé à Hull au Québec, se tient au courant des plus récentes techniques de détection en laboratoire.

Durant l'année, le secteur canadien de l'élevage du bétail a remporté des succès sur les marchés internationaux pour les animaux sur pied, la semence et les embryons. Cela a entrainé une charge de travail importante pour les laboratoires qui effectuent les tests nécessaires afin de respecter les exigences de certification sanitaire. Le personnel de laboratoire a fort bien fait face aux défis que présentaient des envois d'échantillons importants et souvent rapprochés.

Les succès sur les marchés d'exportation tiennent en grande partie à la réputation internationale d'excellence de l'état sanitaire du cheptel canadien. De nombreuses maladies ayant des répercussions économiques importantes, et qui sévissent en d'autres pays sont absentes du Canada ou sont sous contrôle grâce à la réglementation. Un effort constant est nécessaire pour maintenir cette réputation, le plus souvent en exerçant un contrôle de ces maladies.

Dans le cas d'une maladie qui vient d'être éliminée, comme par exemple, la brucellose bovine, il faut poursuivre une surveillance intensive pendant un certain temps avec les outils que les méthodes épidémiologiques et immunologiques modernes mettent à notre disposition. C'est indispensable pour confirmer que l'éradication est totale et complète. De plus, on fait régulièrement des enquêtes épidémiologiques nationales pour assurer que le pays est continuellement exempt d'autres maladies exotiques.

C'est ainsi que, cette année, l'enquête nationale annuelle sur la fièvre cattarhale du mouton a démontré encore une fois que le pays demeure exempt de cette maladie. Dans le même esprit, on a commencé une enquête sur la pseudorage. Alors que près de la moitié des échantillons ont été analysés à la fin de l'année, tous les résultats ont été négatifs. Il s'agit d'analyser des aliquots de sérum de 15 000 porcs, prélevés et lyophilisés au cours de l'année financière 1985-1986. La sélection des échantillons a été faite de telle façon que ceux-ci soient statistiquement représentatifs du troupeau canadien.

On a commencé à monter une banque de sérum semblable pour les bovins; elle devrait être complétée au début de la nouvelle année. Elle comprendra huit aliquots de sérum de chacun des 15 000 animaux sélectionés pour représenter la population nationale. De telles banques de sérum constituent une ressource extrêmement précieuse, non seulement pour démontrer que le Canada est exempt de maladies exotiques, mais également pour fournir des donnés sur l'incidence ou la répartition régionale de maladies indigènes nécessaires aux études épidémiologiques.

Les laboratoires produisent nombre des réactifs utilisés pour les épreuves de diagnostic et pour le diagnostic sur le terrain de mycobactérioses. Ils participent aussi à l'élaboration de nouvelles méthodes analytiques, qu'on adapte constamment aux techniques récentes, comme par exemple les épreuves immunoenzymatiques (ELISA). L'année dernière, une épreuve ELISA pour le dépistage des anticorps contre le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine a été introduite. Des épreuves ELISA pour le diagnostic sérologique de la brucellose et de la pseudorage ont été adoptées pour une période d'essai. Ces dernières subiront des améliorations et leur usage sera implanté de façon permanente dans l'année qui vient.

Une épreuve en culture tissulaire pour la détection du virus de la rage a été introduite, réduisant le temps de confirmation de 15 à 30 jours à 4 à 5 jours. Cette méthode a également permis d'éliminer l'utilisation de 30 000 souris par année et ainsi de réduire les coûts d'opération de façon significative.

Le tableau suivant indique la quantité de services fournis pendant l'année civile 1986:

	Nombre de tests
Maladies animales exotiques (enquêtes épidémiologiques comprises)	10 447
Éradication de la brucellose	1 210 617
Éradication de la tuberculose	1 398
Maladies à déclaration obligatoire et autres maladies d'intérêt national	119 162
Insémination artificielle et transplantation embryonnaire	97 317
Importation	37 705
Exportation	224 651
Salubrité des viandes	28 153
Services de soutien	138 321
Produits biologiques vétérinaires (doses d'essai)	3 958 367

Dans un avenir rapproché, on prévoit que des progrès pourront, dans le domaine de la biotechnologie, s'appliquer à la production de réactifs biologiques plus spécifiques et plus facilement standardisés.

Les épreuves de dépistage de contaminants et de résidus dans la viande et les produits carnés viennent en aide au Programme de l'hygiène des viandes. Cinq des laboratoires effectuent des analyses bactériologiques et l'un d'entre eux est équipé du matériel complexe nécessaire pour détecter les résidus d'antibiotiques et d'autres produits chimiques.

Les produits canadiens et importés subissent des épreuves pour la détection des bactéries pathogènes et des résidus de produits chimiques qui pourraient être nocifs pour les consommateurs. Pendant l'année, on a procédé à des enquêtes pour dépister des salmonelles, des campylobactéries, de *E. coli* producteur de vérotoxine, des hormones anabolisantes, du carbadox, du chloramphénicol, du clopidol, des métaux lourds, de l'ivermectin, des biphényls polychlorés, des pentachlorophénols, des pesticides et des sulfonamides.

APPLICATIONS DE LA BIOTECHNOLOGIE À LA DIVISION

Les possibilités de la biotechnologie ont été mises en vedette dans tous les domaines de la recherche biologique. À la Division, l'Institut de recherches vétérinaires (I.R.V.) de Nepean et le Laboratoire de pathologie vétérinaire de Guelph se sont résolument engagés dans l'utilisation de ces nouvelles techniques pour leurs fins particulières.

A Nepean, le recours à la biotechnologie pour la mise au point d'une nouvelle génération d'épreuves de diagnostic à la fois sensibles, spécifiques, bon marché et capables d'être utilisées sur le terrain va créer une véritable révolution dans les méthodes de surveillance sanitaire, de diagnostic et de tests import-export. L'entrée en service de nouveaux vaccins et produits prophylactiques, de facteurs de croissance et de techniques de manipulation des embryons de mammifères élargira plus que jamais auparavant nos moyens de lutte contre les maladies. Il nous faudra cependant mettre en place de nouvelles stratégies pour l'essai et l'homologation de ces nouveaux produits.

Parmi les biotechnologies d'intérêt particulier pour l'I.R.V., citons l'utilisation de l'ADN recombinant pour la construction de sondes à acide nucléique pour le dépistage des virus ou des bactéries et pour la création de nouvelles bactéries; la production d'anticorps monoclonaux (hybridomes) qui serviront à la recherche et la caractérisation des virus et des bactéries et aussi pour les épreuves immunologiques. Mentionnons encore la micromanipulation des embryons et la fertilisation in vitro préalable à la transplantation, ainsi que la technologie des fermentations pour la production des antigènes. Deux détenteurs de bourses de recherche post-doctorales font actuellement bénéficier notre programme de recherches en biotechnologie de leurs connaissances.

A l'heure actuelle, les travaux en cours à Guelph s'attachent à améliorer notre compréhension de la pathogenèse de la salmonellose et à élaborer des vaccins sûrs et efficaces contre *Salmonella*. Grâce aux progrès de la génétique moléculaire, on dispose d'un certain nombre de techniques qui ont facilité nos études dans ces domaines.

Dernièrement, on a pu mettre en évidence des plasmides associés à une recrudescence de virulence chez un certain nombre de sérotypes de *Salmonella*. L'étude de ces plasmides, ainsi que des mécanismes de virulence qu'ils gouvernent, aidera à élucider les différences de virulence manifestées par certains sérotypes et aussi à mieux comprendre le processus de la maladie. Les plasmides ont été marqués par transposons de façon à faciliter les manipulations génétiques et subséquemment le clonage des gènes de virulence.

Les vaccins antisalmonelliques vivants apportent une meilleure protection que les vaccins tués, il reste que leur manque de stabilité et leur virulence ont empêché leur acceptation générale par la profession. L'emploi de la mutagenèse par transposons pour créer des souches possédant des défauts génétiques précis, non réversibles semble apporter une réponse à ce problème. On a ainsi créé des souches mutantes qui nécessitent des éléments nutritifs non disponibles chez l'animal hôte; ils n'ont donc qu'une capacité autolimitée de survivre in vivo. Les premières recherches sur ces types de vaccins sont encourageantes et il semble que cette voie soit applicable à la création de vaccins contre d'autres pathogènes.

Dans le but d'optimiser l'utilisation des moyens disponibles et d'exploiter les progrès touchant au domaine des produits de protection de la santé de l'homme et des animaux , la Division, en collaboration avec Santé et Bien-être social Canada, joue un rôle de pointe dans Bionet. Il s'agit d'un des réseaux regroupant les intéressés aux applications de la biotechnologie, réseaux établis par le ministère d'État aux sciences et à la technologie pour assurer une participation canadienne active dans ce domaine en expansion rapide.

PERSPECTIVES OFFERTES PAR LES ÉPREUVES IMMUNOENZYMATIQUES

À la Division de la pathologie vétérinaire, les efforts de recherche axés sur l'amélioration du service de diagnostic de maladies infectieuses ont porté principalement sur les épreuves immunoenzymatiques. Il s'agit probablement des épreuves les plus souples parmi la génération actuelle de dosages faisant appel à une liaison primaire, en ce sens qu'elles peuvent être appliquées sur le terrain et au laboratoire. De plus, il est possible de les adapter aux diverses exigences du diagnostic (sensibilité et spécificité) dans le dépistage des pathogènes et de leurs anticorps.

On a mis au point des épreuves immunoenzymatiques, ou on est en train de le faire, pour le diagnostic sérologique de la brucellose, de la pseudorage, de la paratuberculose, et de la rhinotrachéite infectieuse bovine, de la trichinose, de la fièvre catarrhale du mouton, de la maladie hémorragique épizootique du chevreuil de Maedi-Visna et de la peste bovine. On introduit actuellement les deux premières au laboratoire de diagnostic comme épreuves officielles. Bien que la majorité d'entre elles aient été mises au point en fonction de la plaque de microtitrage utilisée au laboratoire, quelques-unes, comme les épreuves de dépistage de la pseudorage, de la fièvre catarrhale du mouton et de la peste bovine, ont été adaptées à la nitrocellulose, milieu qui pourrait être utilisé sur le terrain. Les épreuves de diagnostic de la maladie vésiculeuse du porc et de la fièvre catarrhale du mouton, entre autres, ont été modifiées pour permettre le dépistage du pathogène lui-même.

Les anticorps monoclonaux sont maintenant utilisés à part entière dans le développement des épreuves immunoenzymatiques. Outre leur utilisation comme source normalisée de réactifs anti-espèce, leur production en réaction contre certains pathogènes a permis la mise au point d'épreuves compétitives ou bloquantes extrêmement spécifiques. Celles-ci sont particulièrement utiles quand le diagnostic sérologique est compliqué par la vaccination, comme dans le cas de la brucellose.

La technologie des épreuves immunoenzymatiques, combinée à l'utilisation des anticorps monoclonaux, s'avère un instrument souple et extrêmement efficace dans le diagnostic des maladies animales infectieuses.

SÉCURITÉ AU LABORATOIRE

Cette année, deux événements externes ont contribué à nous sensibiliser davantage à la santé et à la sécurité au travail. Il s'agit, premièrement, de la proclamation du Projet de loi C-34, partie IV du Code canadien du travail et, deuxièmement, du rapport du Vérificateur général qui critiquait les méthodes de manutention, d'entreposage et d'élimination des déchets toxiques et dangereux utilisées par le Ministère de l'Agriculture du Canada.

La partie IV du Code canadien du travail, portant sur la santé et la sécurité au travail, change la perception que nous avons de ces notions. Cette législation réglemente les fonctions des comités de sécurité et des représentants qui y siègent, souligne le droit des employés à connaître tous les dangers actuels et prévisibles associées à leur travail et établit clairement leur droit à se soustraire à certaines tâches à cause des risques. Pour la première fois, le Code s'appliquera aussi aux fonctionnaires alors qu'auparavant c'était le Conseil du Trésor qui réglementait leurs activités dans ce domaine au moyen de directives.

Au sein de la Division de la pathologie vétérinaire, les répercussions de cette nouvelle législation ont été moindres qu'ailleurs au Ministère. En effet, la Division s'est déjà dotée d'un bon programme de sécurité, et son agent de sécurité, Mme Robyn McGuire, s'était penchée sur les problèmes et les incohérences qui avaient été mis en lumière. Par conséquent, il a fallu peu de temps pour se conformer au Code.

Les principaux problèmes soulignés dans le rapport du Vérificateur général étaient l'absence de grandes lignes directrices et de méthodes normalisées pour la manutention, l'entreposage et l'élimination des déchets dangereux, de même que pour les activités des comités mixtes de la santé et de la sécurité au travail (CMSST). À la suite de ce rapport, plusieurs équipes ont été formées pour trouver des solutions à ces problèmes. Chaque installation de la Division a établi, ou est en train d'établir, des directives sur la gestion des déchets dangereux. Les recommandations de ces équipes aideront à déterminer les critères devant présider à la formulation de ces directives.

Deux nouveaux laboratoires sont entrés en service cette année, ce qui a nécessité la collaboration de Mme McGuire. Grâce à la participation d'un agent de la sécurité depuis la planification de ses projets, les problèmes que posait le fonctionnement des laboratoires et des locaux de contention ont pu être identifiés. Cela a permis au personnel d'élaborer des règles de sécurité au travail d'après le plan et le mode de fonctionnement des laboratoires.

La pierre angulaire de tout programme de sécurité est l'éducation. Cette année, un représentant de chaque laboratoire a assisté à un cours offert par Santé et Bien-être social Canada sur la sécurité biologique. En novembre, Mme McGuire a donné un cours de deux jours sur la sécurité biologique à l'Institut de recherches vétérinaires de Nepean auquel ont assisté beaucoup d'employés de la Division, de même que des gens de l'extérieur. Espérons que cette expérience pourra servir de base à un cours sur le sujet qui serait donné dans toute la Division.

Grâce à la présence chez nous d'un agent de sécurité à temps plein, il a été possible de mieux uniformiser les normes de sécurité dans les laboratoires. Les CMSST ont été renforcés, les marches à suivre normalisées, et, à la suite de l'effort d'éducation, tous les paliers de l'administration admettent maintenant que la sécurité est importante autant pour les cadres que pour les employés. Cela place la Division dans une position assez enviable en ce qui concerne la santé et la sécurité au travail. On espère terminer bientôt le Manuel de sécurité de la Division de la pathologie vétérinaire et, par l'intermédiaire de Santé et Bien-être social Canada, instituer un régime normalisé de protection de la santé au travail de tout le personnel.

Laboratoire de pathologie vétérinaire
C.P. 1410
10, rue Salem
Sackville, (Nouveau-Brunswick)
E0A 3C0
Tél.: (506) 536-0135

Inclusion de tissu de poumon d'agneau en vue de son examen microscopique pour l'étude de la pathogenèse de la pneumonie interstitielle proliférative, provoquée expérimentalement.

Le Laboratoire est installé à Sackville sur le campus de l'Université Mount Allison. Il a commencé en 1948 comme laboratoire de diagnostic général desservant la région de l'Atlantique. À ses débuts, l'activité principale était le diagnostic sérologique de la brucellose, à laquelle sont venues se greffer la bactériologie, la parasitologie, la pathologie et la sérologie. Le laboratoire, et la ferme où sont entretenus les animaux expérimentaux, emploient 18 personnes.

Le Laboratoire se divise en trois grandes sections : parasitologie, virologie et pathologie-bactériologie de diagnostic, chacune assumant des tâches de diagnostic et des activités de recherche. La recherche porte sur les maladies des moutons et des chèvres ainsi que sur les maladies parasitaires. L'accent est mis sur la pathogénèse de la pneumonie subaiguë du mouton impliquant *Mycoplasma ovipneumoniae*, le virus Parainfluenza-3 et les toxines de *Pasteurella haemolytica*.

La section de parasitologie fait surtout de la recherche même si elle assure aussi un service de références pour les laboratoires vétérinaires provinciaux de la région de l'Atlantique. Elle dispense aussi des services de diagnostic pour divers programmes fédéraux (trichinose, cysticercose, gale et trichomonose). Les recherches actuelles se font sur l'épidémiologie de la trichinose au Canada et sur la mise au point d'une épreuve immunoenzymatique pour la détection de cet organisme. On s'intéresse à la fois à *Trichina spiralis spiralis* et à *T. spiralis nativa*. On étudie également le parasitisme du mouton dans les provinces maritimes.

Pour sa part, la section de virologie assure un vaste service de diagnostic aux producteurs de la région, en plus de son mandat de diagnostic pour les activités fédérales telles que la détection de l'anémie infectieuse équine et l'analyse du sperme destiné à l'exportation. Le volet recherche est axé sur les maladies du mouton et de la chèvre, en particulier sur les rétrovirus du Maedi-Visna et du complexe arthrite-encéphalite caprine. Une épreuve immunoenzymatique est en voie d'élaboration pour le Maedi-Visna.

La section de pathologie-bactériologie de diagnostic assure un rôle de diagnostic dans les programmes de salubrité des viandes et à l'intention des producteurs de moutons et de chèvres, tout en étant responsable des épreuves d'exportation sur les animaux à fourrure. Elle fournit également des conseils au secteur des animaux à fourrure. Le volet bactériologie conduit les analyses microbiologiques de la viande et de ses sous-produits ainsi que des produits animaux, notamment le sperme destiné à l'insémination artificielle et à l'exportation. La section se charge aussi des épreuves sérologiques en marge du programme de lutte contre la brucellose. L'unité d'histopathologie procure un service de diagnostic aux programmes de salubrité des viandes, en plus de fournir des services de soutien et d'exécuter des recherches en collaboration avec les autres sections.

Personnel scientifique

R.F. Stevenson	D.V.M., D.V.S.M., Ph.D.	Directeur
H.J. Smith	B.Sc. (Agr.), D.V.M., M.V.Sc.	Parasitologie
G.G. Finley	D.V.M., D.D.P.	Pathologie
C. Simard	D.M.V., M.Sc.	Virologie
J. Lopez	M.V.Z., M.Sc., Ph.D.	Bactériologie

Laboratoire de pathologie vétérinaire
3400, boulevard Casavant
St-Hyacinthe (Québec)
J2S 7S4
Tél.: (514) 773-7730

Le laboratoire de pathologie vétérinaire de St-Hyacinthe est situé au coeur d'une des régions agricoles les plus prospères de la province de Québec. Le laboratoire vient d'amménager dans un nouvel édifice ultra moderne sur le campus de Haute Technologie Agro-alimentaire de la ville de St-Hyacinthe, à proximité du nouveau Centre agro-alimentaire de la Direction générale de la recherche d'Agriculture Canada et de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

Parmi les services offerts, on compte les épreuves de laboratoire dans le cadre du programme d'éradication de la brucellose bovine. À cette fin, 400 000 échantillons de sang et de lait sont éprouvés annuellement.

Dans le cadre du programme de la salubrité des viandes, le laboratoire effectue des examens microbiologiques sur les viandes crues et transformées; des essais d'isolement d'agents microbiens importants du point de vue de la santé publique tels que *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli* 0157:H7, etc.; et le dénombrement de bactéries présentes dans des échantillons de produits carnés. À cela se rattache un service consultatif de pathologie pour épauler les inspecteurs travaillant dans des abattoirs.

Enfin, des épreuves de diagnostic et de dépistage de maladies sont effectuées dans le cadre du programme sanitaire national auprès du Centre d'insémination artificielle du Québec afin de répondre à certaines exigences d'exportation de semence bovine et d'embryons.

Personnel scientifique

A.N. Gagnon	D.M.V., M.Sc.	Directeur
S.P. Carrier	D.M.V., M.Sc.	Chef, Section de sérologie
Y. Robinson	D.M.V., M.Sc., Dipl. L.A., I.P.S.A.V.	Chef, Section de la salubrité des viandes
S. Messier	D.M.V., M.Sc., Ph.D.	Chef, Section de bactériologie

Institut de recherches vétérinaires
801, chemin Fallowfield
C.P. 11300, Succursale H
Nepean (Ontario)
K2H 8P9
Tél.: (613) 998-9320
Télex: 053-4349
et
100, boulevard Gamelin
Hull (Québec)
J8Y 1V9
Tél.: (613) 997-3303

L'Institut de recherches vétérinaires (I.R.V.) est un centre de compétence et de connaissances essentielles sur certaines maladies du bétail et de la volaille qui ne sévissent pas au Canada, qui sont transmissibles à l'homme ou qui constituent un obstacle non tarifaire au commerce international. On y produit également des réactifs biologiques utilisés par d'autres laboratoires de la Division de la pathologie vétérinaire de même que par le personnel de terrain du Ministère de l'Agriculture du Canada. Un nouveau programme d'évaluation des produits biologiques a été mis sur pied en 1986.

Maladies animales exotiques (MAE)

En 1986, une partie du cours annuel sur les maladies exotiques a été donnée à l'I.R.V., en collaboration avec l'Université de la Saskatchewan. Cette série de conférences a été suivie du cours habituel qui se déroule à Grosse-Île au Québec.

Pour appuyer les travaux de surveillance accrue sur le terrain, le laboratoire de Hull a examiné un nombre supérieur d'échantillons pour permettre d'éliminer l'hypothèse de maladies vésiculeuses ou autres maladies animales virales exotiques.

Dans le cadre du programme de mise au point des méthodes, on a adapté l'épreuve immunoenzymatique de dépistage des anticorps anti-virus de la pseudorage à la surveillance du cheptel porcin canadien. On a commencé à travailler sur une méthode semblable pour le dépistage des anticorps anti-virus de la fièvre catarrhale du mouton.

En biotechnologie, on a travaillé à la production d'anticorps monoclonaux contre le virus de la fièvre catarrhale du mouton, à l'application diagnostique d'une sonde d'acide nucléique pour le dépistage du virus de la pseudorage et l'on a progressé dans l'analyse du génome du virus de la maladie hémorragique épizootique du chevreuil.

Pour donner au Canada une source de réactifs et de matériel nécessaires à l'amélioration du diagnostic sérologique de l'anaplasmose, l'Institut a commencé la production d'antigènes d'*Anaplasma marginale*.

Rage

En 1986, l'Institut a traité un nombre record d'échantillons. Le 1er juin, la Sous-section du diagnostic de la rage a officiellement adopté une nouvelle méthode de culture de

tissus pour remplacer l'épreuve d'inoculation des souris. Avec cette méthode, on obtient les résultats en quatre ou cinq jours au lieu de quinze à trente jours et l'on réalise une économie annuelle d'environ 35 000 à 40 000 dollars, dont le coût d'environ 30 000 souris.

Des essais à l'aide d'un virus vaccinal recombinant, porteur de glycoprotéine rabique, ont conduit à la première immunisation réussie de mouffettes par administration d'un vaccin antirabique par voie orale.

On a confirmé l'association de lésions spongiformes (Figure 1) à l'infection par la rage et l'on a décrit leur nature et leur distribution dans le système nerveux central.

FIGURE 1

Cerveau de mouffette rabique infectée expérimentalement. Micrographie électronique d'une petite vacuole attachée à la membrane du dendrite d'un neurone. Noter l'extrémité adjacente de l'axone contenant des vésicules de neurotransmetteur.
(Photo publiée dans Acta Neuropathologica: 63:198-202, 1984)

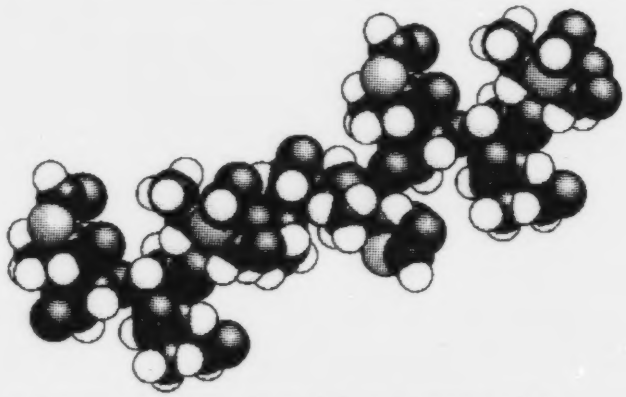
Brucellose

L'Institut a joué un rôle de premier plan en aidant d'autres laboratoires de la Division à appliquer une épreuve immunoenzymatique normalisée pour le dépistage de la brucellose bovine. Cette procédure minutieusement contrôlée permettra éventuellement diverses applications de cette technique. Pour faciliter la normalisation, on utilise dans ce cas des anticorps monoclonaux anti-immunoglobuline.

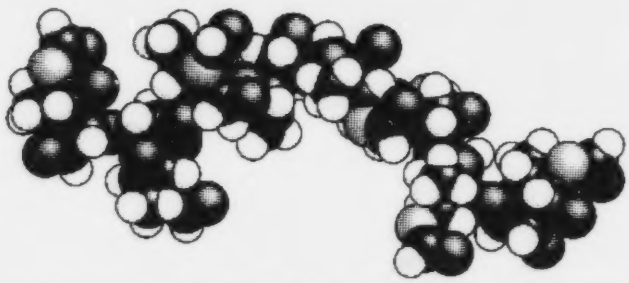
Grâce à une collaboration soutenue avec le Conseil national de recherches du Canada, on a étendu la caractérisation des antigènes à hydrates de carbone en chaîne-0 des lipopolysaccharides de *Brucella*, essentiels au diagnostic, pour démontrer les différences biochimiques entre les antigènes de *B. abortus* (A) et de *B. melitensis* (M) décrits dans l'étude classique de Miles et Pirie de 1932 (Figure 2). De plus, l'analyse biochimique des "poly B" a montré que la chaîne-0 purifiée est un élément antigène actif de ces préparations, qui peut être utilisé dans les méthodes d'immunodiffusion ou immunoenzymatique pour distinguer les bovins infectés par la brucellose de ceux qui ont été vaccinés.

On a montré que *Brucella abortus* était capable de recevoir, de maintenir et de transférer des plasmides par conjugaison, dévoilant ainsi la possibilité de les utiliser en combinaison avec le clonage dans les travaux de génie génétique sur la brucellose.

FIGURE 2



a) Polysaccharide à chaîne O de Brucella abortus *119-3*



b) Polysaccharide à chaîne O de Brucella melitensis *16M*

(Courtoisie de D.R. Bundle et M.B. Perry du Conseil national de recherche du Canada, Ottawa)

Tuberculose

La participation de l'Institut à une comparaison internationale des fractions protéiques purifiées de tuberculine bovine organisée par le *Central Veterinary Laboratory* à Weybridge (Royaume-Uni) est maintenant terminée.

Importation et exportation de bétail

Plusieurs modifications ont été apportées aux protocoles pour empêcher que le virus de la diarrhée virale des bovins contamine le sérum de veau foetal et les lignées de cellules rénales utilisés pour la certification à l'exportation et pour d'autres analyses.

On a poursuivi les travaux sur la transmission des maladies par les embryons, travaux qui, avec d'autres réalisés ailleurs, commencent à influer sur les conditions de certification sanitaire des embryons exportés.

Autres maladies

On a mis au point une technique de production d'antigènes de l'anémie infectieuse du cheval, et autres rétroviroses, sur des lignées de cellules continuellement infectées. Une demande de brevet a été déposée pour cette technique qui fait maintenant l'objet d'un transfert autorisé à une société canadienne.

Les méthodes bactériologiques et sérologiques ont bénéficié des études sur la paratuberculose des bovins et des petits ruminants. On a montré que la centrifugation des échantillons fécaux améliorait la sensibilité des méthodes de culture. Un antigène de lipoarabinomannane servira à accroître la sensibilité des techniques utilisées dans une prochaine enquête sérologique sur les bovins de l'Ontario. On a produit des anticorps monoclonaux contre *Mycobacterium paratuberculosis* en vue d'améliorer le dépistage de cet organisme.

Enfin, on a constaté que l'application d'un enduit dans les récipients de culture en plastique améliorait grandement la croissance des cellules de rein de poulet utilisées pour la culture des virus aviaires.

Évaluation de produits biologiques

Une nouvelle section de l'évaluation des produits biologiques a été créée pour doter le laboratoire des moyens nécessaires à la surveillance des programmes de contrôle de la qualité des fabricants, programmes qui assurent le respect des normes de pureté, de puissance, d'innocuité et d'efficacité des produits. Cinq des sept postes ouverts étaient comblés en décembre, alors que les méthodes d'analyse étaient en voie d'être établies.

Typage sanguin

Les services de typage de sang de chevaux et de bovins ont été transférés à des laboratoires privés en 1986.

Personnel scientifique

B.W. Stemshorn	B.Sc., D.M.V., Ph.D.	Directeur
Opérations de laboratoire		
J.A.J. Carrière	B.A., D.M.V.	Chef
J. Knowlton	D.V.M.	Coordonnateur de diagnostic intérimaire
Vacant		Vétérinaire-chef
Immunologie		
E.A. Sugden	B.Sc., Ph.D.	Chef
J. Cherwonogrodzky	B.Sc., M.Sc., Ph.D.	
J.R. Duncan	B.S.A., D.V.M., M.Sc. Ph.D., A.C.V.P.	
K. Nielsen	B.Sc., M.Sc., Ph.D.	
Recherche en microbiologie		
J.L. Spencer	D.V.M., M.S., Ph.D.	Chef
B.W. Brooks	B.Sc.(Agr), M.Sc., Ph.D.	
S. Chen	D.V.M., M.S.	Pathologie aviaire
A.D.E. Fraser	S.Sc.(Hon), M.Sc., Ph.D.	
M.M. Garcia	B.S.A..(Hon), M.Sc., Ph.D.	
C.E. Rigby	B.Sc., M.Sc., Ph.D.	
M.L. Cerqueira-Campos	B.M.V., Ph.D.	Boursière CRSNG
Services en Microbiologie		
J.B. Stevens	B.Sc., D.V.M., M.Sc., Ph.D.	Chef
K.L. Malkin	B.V.Sc., Dipl. Vet. P.M.	
R.B. Stewart	B.Sc. (Hon)	
C. Turcotte	D.M.V., M.Sc.	
Pathologie		
K.M. Charlton	D.V.M., Ph.D., A.C.V.P.	Chef
A. Bundza	D.V.M., Dipl. Clin. Path.	
G.A. Casey	B.Sc.	
T.W. Dukes	D.V.M., M.Sc.	
F. Gilka	Med. Vet, M.V.Dr., C.Sc., Ph.D., A.C.V.P.	
K.M. Johnston	D.V.M., M.V.Sc.	
N.D. Tolson	Ph.D.	Boursier MRNO
W.A. Webster	B.Sc.	
Reproduction		
W.C.D. Hare	M.A.(hc), B.Sc., Ph.D. D.V.M.&S., F.R.C.V.S.	Chef
A. Bielanski	Ph.D., D.V.M., Dr.Habilit. V.M.	
A.M.P. Bouillant	D.M.V., M.S., Ph.D.	
M.D. Eaglesome	B.V.M.S., M.R.C.V.S.	
E.L. Singh	B.Sc., M.Sc.	
G.C.B. Randall	B.V.Sc., Ph.D., M.R.C.V.S.	
Sérologie		
P.F. Wright	B.Sc., M.Sc., Ph.D.	Chef
W. Kelly	B.Sc. (Hon)	
G.J. Kraay	B.Sc., M.Sc., Ph.D.	
F.J. Robertson	B.Sc. (Agr), D.T.A., B.V.M.S., M.R.C.V.S.	
J. Shapiro	D.V.M., Dipl. Path.	
P.T. Shettigara	B.V.Sc., M.Sc., Ph.D., D.V.M., D.T.V.M., D.E.C.H., M.R.C.V.S.	
Évaluation des produits biologiques vétérinaires		
F.C. Thomas	D.V.M., Ph.D.	Chef intérimaire
R.P. Lacroix	B.Sc., M.Sc.	
G.M. Ruckerbauer	B.A., M.A., D.V.M.	
J. Smith	B.Sc.	
Virologie		
P.R. Ide	D.V.M., M.Sc., Ph.D.	Chef
A. Afshar	D.V.M., Ph.D.	
A. Bouffard	D.M.V., M.Sc., Ph.D.	
C. Dubuc	D.V.M., M.Sc.	
G.C. Dulac	D.M.V., M.Sc., Ph.D.	
D.J. Myers	D.V.M., M.Sc.	

Laboratoire de pathologie animale
110, chemin Stone, ouest
Guelph (Ontario)
N1G 3W4
Tél.: (519) 822-3300

Photographie sous microscope électronique à balayage de l'iléon d'un veau, 12 heures après infection par voie buccale par Salmonella typhimurium – R. Clarke

Le laboratoire est situé dans les nouvelles installations du parc technico-commercial de l'Université de Guelph et emploie 25 personnes. Il offre des services de diagnostic et effectue des recherches en vue d'aider l'industrie canadienne de la volaille et du bétail. Des installations spécialisées sont disponibles pour la recherche en microbiologie et en biotechnologie, y compris des aires d'isolement où l'on peut effectuer des travaux sur les agents pathogènes virulents.

Les services de diagnostic viennent épauler les programmes nationaux d'Agriculture Canada sur les maladies des animaux en effectuant des tests de dépistage de la brucellose, de l'anémie infectieuse des équidés et de la campylobactériose. De plus, des essais sont menés afin de s'assurer que les bestiaux et les produits animaux canadiens respectent les règlements sanitaires des pays importateurs avant de quitter le Canada.

L'Unité de salubrité des viandes effectue des examens bactériologiques des viandes fraîches et transformées et utilise des méthodes immunologiques pour vérifier l'espèce animale d'origine des échantillons de viande fraîche. L'Unité fournit également des services d'enquête à l'usine afin d'appuyer les fonctions des programmes fédéraux d'hygiène des viandes dans les abattoirs et les usines de transformation.

La recherche sur l'hygiène des viandes est axée sur les épreuves et la mise au point de méthodes en vue de raccourcir le délai de dépistage des bactéries nuisibles et des adultérants dans les aliments. Les travaux en cours portent sur les épreuves d'agglutination sur latex pour la recherche des entérotoxines de *Staphylococcus aureus*, sur les systèmes de recherche de la présence des salmonelles, sur les souches vérotoxiques de *E. coli* et sur d'autres organismes reliés aux toxi-infections alimentaires.

Des recherches sont également menées afin de mieux comprendre les mécanismes pathogènes qui interviennent dans la salmonellose bovine et aviaire. Les études comprennent des travaux sur les rapports entre les plasmides et la virulence de *Salmonella*, sur la toxinogenèse d'isolats aviaires de *Salmonella* et sur les manipulations génétiques des lignées de *Salmonella* en vue de mettre au point des vaccins efficaces. Le laboratoire de Guelph sert aussi de dépôt pour les lignées non humaines de *Salmonella* isolées par la Division de la pathologie vétérinaire.

Personnel scientifique

T.R.S. Bhatia	B.V.Sc.&A.H., M.Sc., M.R.C.V..S.	Directeur
Services de diagnostic		
P.J. Cairns	D.V.M.	Maladies infectieuses
A.M. Lammerding	B.Sc.(Agr.), M.Sc.	Salubrité des viandes
S. Read	D.V.M.	Salubrité des viandes
Recherche		
R.C. Clarke	B.Sc., D.V.M., Ph.D.	Bactériologie
N.M. Harnett	B.A., M.Sc., Ph.D.	Bactériologie
C. Poppe	D.V.M., M.Sc., Dipl.V.P.	Bactériologie
R.B. Truscott	B.S.A., D.V.M., M.S.A., Ph.D.	Bactériologie
W.B. McNab	D.V.M.	Stagiaire en épidémiologie

Laboratoire de pathologie vétérinaire
Pièce 408, Federal Building
269, rue Main
Winnipeg (Manitoba)
R3C 1B2
Tél.: (204) 983-2205
Télex: 075-5922

Les activités du laboratoire, principalement liées au diagnostic, ont pour objectif de faciliter l'exécution des programmes nationaux d'Agriculture Canada concernant les maladies animales comme la brucellose, la tuberculose et l'anémie infectieuse des équidés.

Ses activités comprennent également des épreuves qui facilitent l'exécution de programmes sur l'innocuité de la viande par un examen régulier de la viande et des produits

carnés afin d'assurer leur stérilité et leur traitement adéquat. Le laboratoire participe également à des enquêtes nationales et procède à des épreuves microbiologiques au profit du secteur des couvoirs.

Un programme national de sérosurveillance des bovins, pour créer une banque de sérum, est actuellement en cours. Quinze mille échantillons de sérum seront divisés en parties aliquotes, lyophilisés et mis en réserve pour de futures épreuves et enquêtes épidémiologiques.

De plus, le laboratoire dispose maintenant du matériel pour l'épreuve ELISA qui est utilisée pour confirmer le diagnostic de la brucellose bovine. Des échantillons de sérum porcin ont été soumis à des analyses de dépistage des pseudorages par cette méthode.

Le laboratoire assure un service de sérotypage d'isolats non humains de *Salmonella* provenant des autres laboratoires de la Division et de la Direction générale.

Personnel scientifique

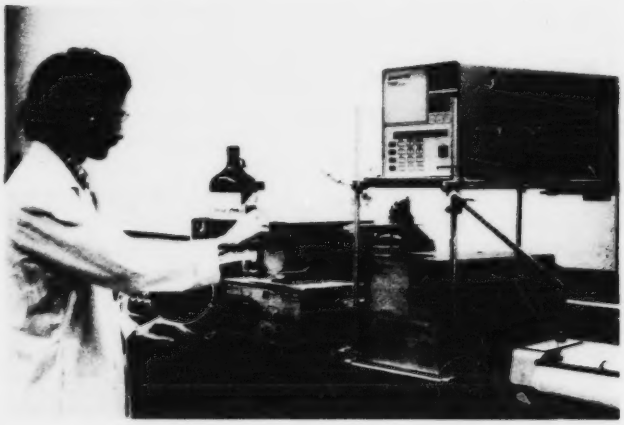
R.C. Finlay	D.V.M.	Directeur et Sérologie
E.D. Mann	D.V.M., M.Sc.	Microbiologie

Laboratoire de pathologie veterinaire
116, Veterinary Road
Saskatoon (Saskatchewan)
S7N 2R3
Tél.: (306) 975-4071
Télex: 074-2471

Ces installations comptent des laboratoires à isolement maximal spécialisés et des laboratoires de chimie analytique. Les activités portent principalement sur la recherche de résidus de produits chimiques dans les produits alimentaires d'origine animale. Le laboratoire se spécialise également dans le diagnostic et la recherche touchant *Brucella* et dans la recherche sur les maladies de la faune reliées à l'éradication de la maladie et aux programmes de lutte de la Direction générale.

La section d'analyse des résidus chimiques a été créée en 1981 afin de regrouper et d'étendre les programmes nationaux de recherche des résidus de produits chimiques dans la viande et les produits carnés. On utilise un vaste spectre de méthodes analytiques pour déceler les résidus de médicaments vétérinaires et de contaminants industriels dans les tissus animaux.

La section des maladies infectieuses se spécialise dans le diagnostic bactériologique, sérologique et pathologique de la brucellose et d'autres maladies préoccupantes des animaux domestiques et de la faune, dont certaines sont des zoonoses. Ce laboratoire sert de centre de référence national pour la culture et le biotypage de *Brucella*.



L'an dernier, le laboratoire a utilisé de nouvelles méthodes d'analyse des tétracyclines et du dimétridazole; il a dû absorber une forte augmentation du nombre des épreuves sur les résidus d'antibiotiques dans la viande; il a procédé à des études sur les délais d'attente à respecter après l'administration de chloramphénicol aux veaux; il a confirmé l'administration illicite d'acétate de trembolone à des veaux de boucherie et préparé des normes et une méthodologie destinées aux laboratoires privés. Après l'évaluation des techniques d'isolement de *Brucella abortus* de tissus infectés, il a trouvé qu'une méthode reposant sur l'homogénéisation et la centrifugation à haute vitesse constitue un net progrès par rapport aux méthodes actuelles. Les connaissances recueillies sur la brucellose et la tuberculose du bison dans le parc national Wood Buffalo ont été largement utilisées dans des discussions sur d'éventuelles solutions à ces problèmes et sur leurs répercussions sur le cheptel bovin. Une nouvelle rubrique a été rédigée pour la revue vétérinaire canadienne. Il s'agit du Rapport des maladies diagnostiquées au Canada dont l'objectif est d'informer les vétérinaires et les autres intéressés sur les similarités et les différences régionales entre les maladies animales.

Personnel scientifique

W.D.G. Yates	D.V.M., Ph.D.	Directeur
Section des maladies infectieuses		
L.B. Forbes	B.Sc., M.Sc.	Maladie de la faune
D.L. Hutchings	D.V.M., Certificat en médecine vétérinaire préventive	Stagiaire en immunologie
S.V. Tessaro	B.Sc., M.Sc., D.V.M.	
Section de l'analyse des résidus chimiques		
J.D. MacNeil	B.Sc., M.Sc., Ph.D.	Chef de section
J.O.K. Boison	B.Sc., M.Sc., Ph.D.	Recherche et développement des méthodes
A.C. Fesser	B.Sc., M.Sc.	Services d'analyse
G.O. Korsrud	B.Sc., M.Sc., Ph.D.	Recherche et développement des méthodes
V. Martz	B.Sc.	Assurance de la qualité/ Agent de sécurité
J.R. Patterson	B.Sc., B.Ed., M.Sc.	Chimiste principal
C.D.C. Salisbury	B.Sc.	Services d'analyse

Institut de recherches vétérinaires
C.P. 640
Lethbridge (Alberta)
T1J 3Z4
Tél.: (403) 381-8182
Télex: 038-56713

La mission de l'Institut de recherches vétérinaires à Lethbridge est d'assurer les services de diagnostic à l'appui des programmes fédéraux de lutte contre les maladies et de certification sanitaire, et de faire des recherches sur les maladies infectieuses des bovins de boucherie qui ont des répercussions économiques sur notre secteur du boeuf.

Le personnel professionnel compte environ 10 membres oeuvrant en bactériologie, en immunologie, en pathologie, en virologie et en recherche clinique. Il est secondé par quelque 40 employées de soutien assurant les services administratifs, techniques et agricoles.

Les grandes avenues de la recherche concernent les maladies respiratoires bovines, la leptospirose bovine, la diarrhée à virus des bovins et la rhinotrathéite infectieuse bovine. L'institut est relié à une ferme d'environ 1 000 hectares où il est en train de constituer un troupeau de bovins de boucherie croisés exempt d'agents pathogènes spécifiques (SPF) qui lui fournit les animaux nécessaires aux expériences. Les pathogènes spécifiquement exclus sont les virus de la rhinotrathéite infectieuse bovine et de la diarrhée à virus des bovins.

L'Institut de recherches vétérinaires fut fondé il y a quelque 80 années avec mission de faire de la recherche sur la dourine chez le cheval. Un nouvel immeuble laboratoire, mis en chantier en février 1985, devrait être terminé à l'automne 1987. Il est équipé pour pouvoir appliquer aux maladies infectieuses des animaux les techniques récentes de la biologie moléculaire. On espère être en mesure de terminer le redéploiement du personnel de l'I.R.V. à temps pour l'installation dans le nouveau local, qui permettra de regrouper sous un même toit les trois sections d'immunologie, de microbiologie et de pathologie-recherche clinique.

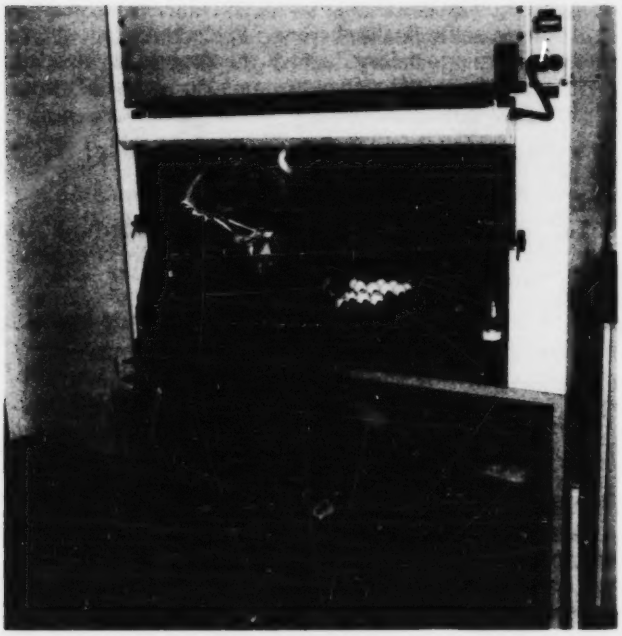
Au cours de l'année écoulée, l'Institut s'est enrichi de l'arrivée des Drs W. Lees et K. Loewen auxquels viendront se joindre l'an prochain les Drs V. Gannon et W. Olson.

L'an prochain, nous comptons mettre en marche le nouveau laboratoire et commencer à utiliser le nouvel équipement pour nos programmes de diagnostic et de recherche.

Personnel scientifique

P.H.G. Stockdale	B.Vet.Med., M.Sc., Ph.D.Directeur M.R.C.V.S.
Immunologie	
H.J. Cho	D.V.M., M.Sc., Ph.D.
L. Nillo	D.V.M., M.Sc.
Microbiologie	
J.J. Bohac	V.M.D., Ph.D.
S.P. Gale	D.V.M.
V.P.J. Gannon	B.Sc., M.Sc., D.V.M.
K.G. Loewen	D.V.M. M.Sc.
Pathologie et recherches cliniques	
K.W.F. Jericho	D.V.M. Ph.D.
V.W. Lees	D.V.M.
W.O. Olson	D.V.M. M.Sc.

Laboratoire de pathologie vétérinaire
13-3071, route 5
Richmond (Colombie-Britannique)
V6X 2T4
Tél.: (604) 273-2713
Télex: 045-08658



Le laboratoire de pathologie vétérinaire du Pacifique est l'un des quatre premiers laboratoires créés par le Ministère au tournant du siècle. Aujourd'hui, les travaux du laboratoire, situé à Richmond, consistent en premier lieu en services de diagnostic appuyant les programmes nationaux de lutte contre les maladies animales menés par Agriculture Canada. Les épreuves font appel à la microbiologie et à la sérologie.

Les installations d'analyse microbiologique sont conçues de façon à empêcher toute fuite d'organismes pathogènes exotiques et dangereux comme *Brucella* et le virus de la maladie de Newcastle. L'équipement permet en outre de procéder aux analyses demandées dans le cadre du programme de l'hygiène des viandes et des échantillonnages d'enquête.

L'équipement d'analyse sérologique, utilisé pour plusieurs maladies, comporte entre autres un lecteur à commande informatique pour les épreuves immunoenzymatiques de la brucellose.

Certains membres du personnel scientifique acquièrent en outre une formation universitaire avancée en pathologie des poissons, ce qui rendra la Division plus à même de faire face aux problèmes de maladie susceptibles d'apparaître dans la jeune aquaculture de la côte Ouest.

Personnel scientifique

W.J. Dorward	B.Sc., D.V.M., V.S.	Directeur
A.C. MacNeill	D.V.M., V.S.	Services diagnostic
R.D. Armstrong	D.V.M.	Stagiaire en pathologie

STATION EXPÉRIMENTALE DE GROSSE-ÎLE

La station de Grosse-Île, sur le fleuve St-Laurent, est administrée par la Division depuis plusieurs années.

On y maintient, prêtes à servir, des installations de quarantaine animale de façon à pouvoir recevoir des importations d'animaux vivants.

Chaque année, au mois de mai, on dispense au laboratoire à sécurité maximale de l'île un cours sur les maladies animales exotiques à l'intention des vétérinaires fédéraux. Les maladies du cheptel, absentes du Canada mais qui pourraient être introduites au pays, y sont étudiées *in vivo*. La coordination du cours est complexe : les animaux sont inoculés avec les agents étiologiques de diverses maladies et à différents moments, de sorte qu'ils présentent les signes cliniques caractéristiques des maladies dans un ordre précis pendant les dix jours du cours. Des exposés théoriques, présentés par des experts du Canada et de l'étranger, épaulent les démonstrations en cubicules. Le financement du cours est assuré par la Division de la formation et de la gestion des ressources de la Direction de l'inspection vétérinaire car il faut assurer la formation de notre première ligne de défense contre les maladies exotiques du bétail.

Agent responsable: François Duchaine

PROJETS DE RECHERCHE

La recherche en pathologie vétérinaire passe par des projets à long, à moyen et à court terme pour la mise au point de méthodes de diagnostic et le transfert de technologie. Les chercheurs ont donc plusieurs rôles à jouer. Ils sont d'abord les utilisateurs des recherches fondamentales et appliquées effectuées au Canada et dans le monde. Ils prennent connaissance de ces recherches par des documents scientifiques, des réunions et des contacts personnels qu'ils établissent au cours des années. Ces renseignements alimentent leur réflexion et leurs recherches personnelles et se distillent en résultats qui leur permettent à leur tour de contribuer à combler les besoins présents et à venir d'autres utilisateurs. Certains chercheurs préfèrent travailler sur les aspects fondamentaux, d'autres sur les aspects pratiques. Leur réussite est toutefois plus grande s'ils s'attaquent aux questions fondamentales au lieu de fournir des réponses ponctuelles.

L'aperçu général de 1986 décrit les réalisations des divers projets de recherche et permet de juger de la diversité du programme. En 1986, trois projets (8521 et 8523 sur la brucellose et 8530 sur la mortalité périnatale) ont été examinés par des scientifiques de l'extérieur et par des clients. On a loué la haute qualité de ces trois projets, et l'orientation future des recherches pour ces trois projets a bénéficié des avis des comités d'examen. En outre, certains instituts et laboratoires ont effectué des examens internes de leurs propres projets.

Le programme de pathologie vétérinaire est caractérisé par un haut degré de collaboration non seulement au sein d'Agriculture Canada mais aussi avec les universités, les établissements de recherche, les entreprises industrielles et les laboratoires étrangers. Cette collaboration contribue à l'avancement des programmes et montre l'intérêt accordé par les organismes de l'extérieur aux recherches effectuées par la Division de la pathologie vétérinaire. Ces activités seront élargies au cours de la prochaine année afin d'utiliser au maximum les ressources scientifiques et les installations de la Division.

I Maladies animales exotiques

8507 Transfert d'embryon comme moyen de lutte contre la maladie

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Les objectifs de ce projet sont de déterminer les risques de transmission de maladie par des embryons d'animaux de ferme en début de développement et de mettre au point des méthodes de manipulation et de traitement des embryons qui élimineront ou réduiront ces risques. Les répercussions anticipées de ces travaux seront l'acquisition de plasma germinal avec peu ou pas de risque d'acquérir les maladies.

Réalisations :
Il a été établi que:

1. Les embryons prélevés chez le bétail atteint de fièvre aphteuse ne transmettent pas la maladie lorsqu'ils sont implantés chez des receveuses saines.
2. Les porcs atteints de fièvre aphteuse n'excrètent pas ce virus dans les voies reproductrices. Des porcs atteints de fièvre aphteuse peuvent donc fournir des embryons sains.
3. Des embryons peuvent être prélevés chez des porcs atteints de peste porcine classique et être implantés chez des receveuses saines sans qu'on transmette la maladie.
4. La cryoconservation est un moyen efficace d'améliorer l'état de santé des embryons : après congélation, on a enregistré une baisse de 44 % du nombre de virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine qui pouvaient être isolés chez des embryons de bovins.

Chercheurs : E. L. Singh, F.C. Thomas, G. Dulac, W.C.D. Hare

8528 Orbivirus d'animaux (fièvre catarrhale du mouton, peste équine, maladie hémorragique épizootique)

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Collecte d'orbivirus et production de réactifs; comparaison d'antigènes; mise au point et évaluation d'une épreuve de diagnostique.

Réalisations :

Les sérotypes 21 et 22 du virus de la fièvre catarrhale du mouton (BTV) ont été obtenus et clonés sur plaques; on a fait ensuite des stocks de référence. L'épreuve de neutralisation sur plaque n'a permis de déceler aucun animal positif au BTV ou au virus de la maladie hémorragique épizootique (EHDV) chez les 141 cerfs mulets et les 72 wapitis de l'Ouest du Canada soumis à cette épreuve. On a recherché la présence du BTV et de l'EHDV dans des échantillons prélevés chez des bovins de l'Ontario impliqués dans des problèmes d'avortements et (ou) de maladie néonatale; aucun des 20 animaux n'a réagi à ces virus. On a élaboré et utilisé un protocole pour la production de particules centrales purifiées du BTV. Les travaux effectués en collaboration avec le Dr Lis du Service canadien de la faune et ceux qu'il a confiés en sous-traitance au professeur D. Brown de l'université d'Ottawa ont permis de produire un anticorps monoclonal réactif contre le BTV à partir de bandes de protéines de ce virus déposées en taches par passage d'un courant électrique sur du papier de cellulose (initiate) après séparation électrophorétique sur gel de polyacrylamide.

Chercheur: F.C. Thomas

8572 Application du test immunoenzymatique ELISA pour le dépistage d'anticorps dirigés contre des virus animaux

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Mettre au point une épreuve ELISA pour le dépistage dans le sérum animal d'anticorps dirigés contre les virus de la pseudorage, de la fièvre catarrhale du mouton, de la maladie hémorragique épizootique (EHD), de la peste bovine et de la stomatite vésiculeuse.

Réalisations :

Une épreuve ELISA indirecte pour la recherche et le dosage d'anticorps porcins dirigés contre le virus de la pseudorage et l'épreuve courante de séroneutralisation (SN) ont été comparées à l'aide de 304 échantillons de sérum prélevés chez des porcs non infectés par le virus de la pseudorage au Canada, et de 1082 et 580 échantillons de sérums de porcs élevés respectivement aux États-Unis et en Angleterre. La sensibilité et la spécificité de l'épreuve ELISA par rapport à la séroneutralisation étaient de l'ordre de 97 à 98 % avec une correspondance plus élevée entre les épreuves lorsqu'une dilution de 1:40 de l'échantillon de sérum était utilisée pour l'épreuve ELISA. Une légère différence a été enregistrée dans le cas de l'épreuve ELISA lorsque l'on a utilisé le virus de la pseudorage et des antigènes témoins, exposés à des rayons gamma, par rapport à des antigènes non irradiés lorsque 275 échantillons de sérum prélevés sur le terrain ont été soumis à cette épreuve. L'ELISA indirecte est une méthode rapide et pratique et elle est utilisée à l'heure actuelle dans le cadre d'une enquête nationale.

Une épreuve ELISA modifiée en phase solide (dot-ELISA) (ELISA sur empreinte ponctuelle) a été mise au point en vue du dépistage visuel des anticorps dirigés contre le virus de la pseudorage dans le sérum de porcs. Cette épreuve a été comparée à la séroneutralisation et à l'épreuve ELISA ordinaire à l'aide de 856 échantillons prélevés sur le terrain. La sensibilité et la spécificité relatives de l'épreuve dot-ELISA étaient de l'ordre de 98 à 99 %. Cette technique peut constituer une épreuve rapide et économique de dépistage sur le terrain de la pseudorage.

Une épreuve ELISA indirecte et une épreuve ELISA compétitive (C), utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques de groupe (de AVRI, Pirbright) ont été mises au point en vue de rechercher la présence d'anticorps contre le virus de la fièvre catarrhale du mouton dans le sérum de bovins et d'ovins. On a évalué la performance de ces épreuves de dépistage des anticorps anti-virus de la fièvre catarrhale dans des échantillons de sérum à dilution successive et des éluats de sang entier, séchés sur du papier filtre, prélevés chez trois veaux et quatre moutons infectés expérimentalement par le type 10 du virus de la fièvre catarrhale du mouton. Alors que les deux épreuves ELISA se sont révélées fiables, l'épreuve C-ELISA était toujours aussi sensible, sinon plus, que l'épreuve d'immunodiffusion en gélose, la réaction modifiée de fixation du complément et la neutralisation de plaque pour le dépistage des anticorps anti-virus de la fièvre catarrhale. Contrairement à l'immunodiffusion en gélose, on n'a observé aucune réaction croisée entre l'antigène du virus de la fièvre catarrhale du mouton et l'anticorps bovin anti-EHD dans une épreuve ELISA ou l'autre.

Une épreuve ELISA de confirmation (B) (blocking), utilisant des anticorps monoclonaux (McAb) contre l'antigène du virus de la fièvre catarrhale du mouton spécifique de groupe a été mise au point comme épreuve simple et rapide de sérodiagnostic de la fièvre catarrhale. L'antigène du virus de la fièvre catarrhale est adsorbé sur du papier de nitrocellulose sous forme de taches, mis en présence du sérum à l'étude puis avec l'anticorps monoclonal et finalement avec une immunoglobuline anti-souris conjugée à une enzyme. La performance de l'épreuve B-dot-ELISA a été évaluée par l'étude de sérums provenant d'ovins et de bovins infectés expérimentalement et naturellement. Par rapport à l'immunodiffusion en gélose, l'épreuve B-dot-ELISA permettait de déceler des anticorps anti-virus de la fièvre catarrhale plus tôt après l'exposition et donnait plus de résultats positifs dans le cas des sérums prélevés chez 65 bovins et 24 ovins de troupeaux américains. L'épreuve B-dot-ELISA pourra être utilisée comme épreuve rapide, simple et économique de diagnostic sur le terrain de la fièvre catarrhale du mouton et pour des études séroépidémilogiques connexes.

Une épreuve ELISA indirecte a été mise au point pour la recherche d'anticorps dirigés contre le virus EHD dans le sérum de bovins.

Une épreuve dot-ELISA indirecte a été mise au point pour le dépistage visuel d'anticorps anti-virus de la peste bovine dans le sérum de bovins et de caprins. Cette épreuve était comparable à la séroneutralisation quant à sa capacité de détection des anticorps chez les bovins et les caprins infectés expérimentalement par la souche Kabete "O" vivante atténuée du virus de la peste bovine.

Une épreuve ELISA indirecte, utilisant l'antigène commercial VP73, a été mise au point en vue de rechercher des anticorps porcins dirigés contre le virus de la peste porcine africaine. La performance de l'ELISA était comparable à l'épreuve d'immunofluorescence indirecte ordinaire pour déceler les anticorps anti-virus de la peste porcine africaine dans des sérums de porcs infectés expérimentalement. L'épreuve s'est révélée spécifique lorsque l'on a utilisé 400 sérums provenant de porcs non contaminés par le virus de la peste porcine africaine.

Chercheurs : A. Afshar, G.C. Dulac, P.F. Wright, F.C. Thomas, C. Dubuc

8574 Utilisation de la microscopie électronique pour le diagnostic rapide des maladies virales exotiques

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectif :
Mettre au point des méthodes d'examen de spécimens par microscopie électronique directe pour le diagnostic rapide des maladies animales exotiques.

Réalisations :

On s'est servi de la centrifugeuse "airfuge" (Beckman) pour déposer des virus provenant de cultures cellulaires, de tissus et de sécrétions sur les grilles du microscope électronique dans le rotor EM-90, en appliquant des forces de l'ordre de 20 000 à 90 000 g. En changeant de grilles lorsque l'on augmentait la force g (rotations de 10 minutes), des particules de taille différentes y compris des débris se sont accumulées sur ces grilles. Selon le virus, des forces comprises entre 30 000 et 60 000 g se sont avérées les plus utiles pour une identification rapide.

La technique du marquage à l'or des protéines a été utilisée pour marquer et identifier rapidement le virus de la stomatite vésiculeuse et le virus de la maladie vésiculeuse du porc dans des échantillons de culture cellulaire et des échantillons de tissus obtenus par "grattage des vésicules".

On a constaté que l'utilisation du microscope électronique pour le diagnostic rapide de maladies animales exotiques permettait une économie de temps et de ressources.

Chercheur : F.C. Thomas

8575 Application de l'immunofluorescence directe et indirecte au dépistage d'antigènes et d'anticorps dans le cas de maladies virales exotiques et indigènes

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Évaluer les réactifs immunofluorescents comme moyen rapide de diagnostic virologique et sérologique de maladies animales exotiques.

Réalisations :

Deux collections de sérums ont été utilisées pour évaluer la valeur de quatres épreuves sérologiques, soit l'ELISA, l'immunofluorescence indirecte, l'immunodiffusion en gélose et la fixation du complément. Une des collections a été préparée à partir de sérums recueillis tardivement au cours du processus d'infection (Plum Island, É.-U.) alors que l'autre était composée de sérums recueillis dès le début de l'infection à l'Institut de recherches vétérinaires. On a également établi des profils des anticorps dans le sérum de six porcs infectés expérimentalement avec une souche chronique du virus de la peste porcine africaine. Dans le cas des sérums précoces et tardifs, la sensibilité et la spécificité de l'immunofluorescence indirecte et de l'ELISA étaient presque de 100 %. Dans le cas des sérums précoces, la sensibilité de la fixation du complément était de 80 % et la spécificité de 100 %. La sensibilité de la fixation du complément a chuté à 25 % dans le cas des sérums tardifs alors que la spécificité était de 83 %. Pour ce qui est de l'immunodiffusion en gélose, la sensibilité était de 70,8 % alors que la spécificité était toujours de 100 % dans le cas des sérums tardifs. Les sérums précoces n'ont pas été soumis à l'immunodiffusion en gélose.

Dans le profil, des anticorps ont été décelés quatorze jours après l'infection avec la méthode de l'immunofluorescence indirecte et l'ELISA, et après 460 jours leur taux était encore élevé. À ce moment-là, les anticorps n'étaient plus décelables par la fixation du complément et l'immunodiffusion en gélose.

De fausses réactions positives ont été obtenues dans le cas du virus de la peste porcine africaine avec le sérum normal de porcs (3/10) exposé à des rayons gamma. Les sérums positifs sont demeurés positifs par l'immunofluorescence indirecte même si le titre avait baissé.

L'immunofluorescence indirecte a été évaluée comme moyen de dépistage des anticorps dirigés contre le virus de la peste porcine classique dans des échantillons de sang prélevés chez 5 porcs infectés expérimentalement. L'immunofluorescence indirecte a décelé la présence d'anticorps aussi rapidement que la réaction d'inhibition des foyers par anti anticorps fluorescents existante. Des taux élevés d'anticorps ont persisté tout au long de l'expérience qui a duré 150 jours. L'épreuve ne dépend pas de la disponibilité de cellules vivantes et permet d'obtenir des résultats quatre heures après la réception comparativement aux 48 heures requises dans le cas de l'inhibition des foyers par anti anticorps fluorescents.

Le conjugué immunofluorescent du virus de la peste porcine classique a été absorbé avec des homogénats de ganglions lymphatiques porcins et bovins. Cette technique permet d'éliminer la coloration non spécifique qui a déjà été observée dans les tissus porcins et permet d'utiliser le conjugé dans des coupes de tissus effectuées au cryostat.

Deux des douze anticorps monoclonaux qui ont été produits contre le virus de la fièvre catarrhale du mouton à l'Institut de recherches vétérinaires ont été détectés par immunofluorescence indirecte au moyen d'un anticorps commercial de lapin anti-souris qui doit être spécifique à l'antigène de type II de la fièvre catarrhale du mouton et qui ne provoque pas de réaction croisée avec le virus EHD de type 1. On a réussi également à détecter l'antigène de la fièvre catarrhale au moyen de sérums polyclonaux bovins anti-fièvre catarrhale avec un conjugué d'isothiocyanate de fluorescéine commercial de lapin anti-bovin.

La méthode doit servir à identifier le virus de la fièvre catarrhale du mouton dans des spécimens prélevés sur le terrain et placés directement en culture cellulaire ou après un passage sur oeufs embryonnés.

Chercheurs : G.C. Dulac, D. Myers, A. Bouffard, A. Afshar, P.T. Shettigara

8576 Irradiation par rayons gamma de virus de maladies exotiques et de leurs antigènes

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectif :
Mettre au point des méthodes de traitement par rayons gamma de produits biologiques et de préparations virales pour inactiver des organismes pathogènes et ainsi conserver l'efficacité biologique désirée.

Réalisations :

La lyophilisation a eu un effet important sur la destruction des virus par exposition à des rayons gamma lorsqu'on la compare à l'état liquide. La lyophilisation a eu un effet protecteur sur les virus de la pseudorage et de la peste porcine classique, aucun effet sur le virus de la maladie vésiculeuse du porc, et a rendu le virus de la peste porcine africaine plus sensible à l'irradiation.

Une irradiation à des doses mortelles pour le virus (c'est-à-dire 4 Mrad) n'a pas eu d'effet sur l'épreuve d'immunofluorescence indirecte sur verre dans le cas des virus de la pseudorage, de la peste porcine africaine ou de la maladie vésiculeuse du porc, mais à faibles doses (0,5 Mrad) elle a complètement détruit l'immunofluorescence indirecte pour le virus de la peste porcine classique.

Des protocoles d'irradiation des antigènes préparés au laboratoire à haute sécurité ont été établis en vue de leur utilisation hors de ce laboratoire.

Un protocole d'irradiation du sérum bovin foetal qui sera utilisé dans les cultures cellulaires conçu comme une protection contre la contamination par le virus de la diarrhée virale des bovins a eté élaboré à partir des données sur la présence de ce virus dans le sérum.

Chercheurs : F.C. Thomas, A. Bouffard, G.C. Dulac, D.J. Myers

8599 Épreuve ELISA pour le dépistage de l'antigène de la maladie vésiculeuse du porc

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectif :
Mettre au point une épreuve ELISA pour le dépistage des antigènes de la maladie vésiculeuse du porc en culture cellulaire et dans des tissus animaux en vue de diagnostiquer les maladies vésiculeuses.

Réalisations :

Une épreuve ELISA sandwich à double anticorps (ou anticorps "de capture") a été utilisée pour révéler l'antigène de la maladie vésiculeuse du porc (SVD). Un antisérum de lapin contre le virus de la maladie vésiculeuse du porc a été utilisé comme anticorps de capture et de l'antisérum de cobaye ou de porc contre le SVDV comme anticorps détecteur. Une IgG de chèvre anti-cobaye ou une IgG de chèvre anti-porc marquée à la peroxydase a été utilisée comme conjugué et de l'ABTS dans un tampon citrate servait de substrat. Certains problèmes de réactivité croisée ont été résolus par l'addition de sérum de lapin non immun à la préparation d'antigène et du sérum de lapin et du sérum de bovin à l'anticorps détecteur et au conjugué. Des résultats positifs ont été obtenus à la fois par la méthode ELISA et la méthode de titrage des virus avec l'antigène de cerveau de souris, la culture en tissus (virus de la maladie vésiculeuse du porc sur des cellules PK15) et les tissus de porcs infectés localement (talon) mais pas avec les tissus de porcs infectés par voie intraveineuse. Des résulats négatifs ont été obtenus avec les mêmes antigènes lorsque l'on a utilisé du sérum de lapin non immun comme anticorps de capture et avec un antigène témoin non contaminé lorsque l'on a utilisé du sérum de lapin non immun et de l'antisérum dirigé contre le SVD comme anticorps de capture.

Chercheurs : C. Dubuc, P.F. Wright, A. Afshar, G.C. Dulac, P.T. Shettigara

8605 Mise au point de techniques de virologie moléculaire en vue du diagnostic de certaines maladies animales exotiques

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectif :
Améliorer les techniques et les réactifs en vue de la détection rapide et de l'identification des acides nucléiques des virus ou des produits géniques *in vitro* et chez des animaux infectés naturellement au moyen de méthodes modernes de biologie moléculaire. Le virus de la maladie hémorragique épizootique a été choisi comme modèle en vue de l'élaboration de ces techniques qui comprendront l'électrochromatographie et la technique de la sonde à cADN.

Réalisations :

Une méthode améliorée d'extraction rapide et efficace de fragments d'ARN bicaténaire chromosomique de particules purifiées du virus de la maladie hémorragique épizootique a été mise au point. Après l'extraction, on décèle en général des fragments chromosomiques similaires chez d'autres virus par séparation des fragments par la technique PAGE (10 %) et par coloration ultérieure au bromure d'éthidium ou par coloration à l'argent des gels. Ces conditions n'étaient pas appropriées pour déceler tous les fragments de génome du virus EHD et une nouvelle réaction PAGE en gradient de 10 à 15 % a été mise au point pour déceler tous les fragments. Une première comparaison de plusieurs sérotypes du virus EHD à l'aide de cette nouvelle méthode a révélé des différences importantes au niveau des profils du génome. Il semble qu'il y ait un fragment d'ARN bicaténaire commun à tous les sérotypes étudiés jusqu'à maintenant, qui se révélerait utile à la mise au point d'une sonde à cADN.

Chercheurs : A.D.E. Fraser, F.C. Thomas, C. Dubuc, A. Afshar

8615 Mise au point d'une sonde moléculaire d'acide nucléique en vue du dépistage de l'ADN du virus de la pseudorage

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectif :

Rechercher la présence de l'ADN du virus de la pseudorage dans des cultures de cellules infectées par ce virus et peut-être dans des cultures de tissus.

Réalisations :

De l'ADN purifié du virus de la pseudorage a été digéré par l'inhibition de l'hémagglutination (IH) Bam et on a analysé le profil de restriction. Le fragment 4 obtenu par inhibition de l'hémagglutination Bam de l'ADN du virus de la pseudorage inséré dans un plasmide d'*E. coli* a été marqué par le processus de coupure-substitution au moyen d'un nucléotide marqué à activité spécifique élevée. L'ADN digéré du virus de la pseudorage a été soumis au transfert de Southern et à l'hybridation au moyen de la sonde obtenue par coupure-substitution. On a pu déceler les bandes d'hybridation homologue jusqu'à une dilution de 0,1 pg de l'ADN du virus de la pseudorage.

La sonde obtenue par coupure-substitution a été utilisée pour déceler la séquence virale des cultures de cellules infectées par le virus de la pseudorage par le processus d'hybridation sur empreinte ponctuelle (dot-blot). La fusion de la sonde avec les cultures cellulaires infectées à différents degrés était décelable jusqu'à un degré d'infection (M.O.I.) de 0,01 pour une dilution de 1/100, bien qu'aucun virus ne fût décelable par titration pour une dilution de 1/100 pour chacun des degrés d'infection.

L'hybridation hétérologue de la sonde marquée au P32 avec des cultures cellulaires infectées par le virus de la rhinotrachéite infectieuse des bovins, des adénovirus, des parvovirus et des cytomégalovirus n'a présenté aucune hybridation croisée avec des cultures de cellules infectées par le virus de la rhinotrachéite et des adénovirus. Aucun ADN viral n'était décelable dans les cultures de cellules infectées par des parvovirus et des cytomégalovirus.

Des études d'hybridation homologue de la sonde portant sur le tissu du cerveau et des amygdales de porcs infectés par le virus de la pseudorage ont été effectuées par la technique d'hybridation dot-blot. Aucun des tissus infectés ne présentait de profil d'hybridation décelable.

Chercheurs : N. Kuriyan et C. Dubuc

8512 Épidémiologie de la trichinose au Canada

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Sackville

Objectifs :
Étudier les paramètres du préconditionnement sur la résistance de *Trichinella spiralis nativa* à de basses températures de réfrigération et évaluer la technique ELISA pour le diagnostic de la trichinose.

Réalisations :

La survie des larves était plus longue au fur et à mesure que l'on abaissait la température de préconditionnement. La période minimale de préconditionnement requise était inversement proportionnelle à la température de réfrigération. Le préconditionnement de *T. spiralis nativa* s'est produit dans la musculature de cobayes, de renards, de furets, de visons et de chiens. Les larves ont survécu plus longtemps dans les tissus de renards et de chiens. L'âge de l'infection ne constituait pas un facteur important bien que les larves préconditionnées survivaient un peu plus longtemps dans des infections plus vieilles.

L'épreuve ELISA s'est révélée sensible et spécifique pour le dépistage des anticorps contre *Trichinella*, lorsqu'ils sont présents, dans le sérum de porcs. La production d'anticorps dirigés contre *Trichinella* dépend de l'importance de l'infection, de l'âge de l'infection au moment où l'animal est examiné et de l'immunocompétence ou de la réponse immunitaire à l'infection de chacun des animaux. Dans le cas d'infections précoces ou d'infections légères, on a enregistré de fausses réactions négatives à l'épreuve ELISA. On ne peut donc pas recommander l'utilisation de cette épreuve comme méthode pour garantir que les porcs ou les produits du porc sont exempts de trichinose.

Chercheurs : H.J. Smith, C.G. Finley

8529 Mécanismes pathogènes des maladies à germes anaérobies

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectif :
Réduire les fortes pertes économiques dues à la nécrobacillose au niveau de la gestion et de la production de bovins de boucherie de haute qualité.

Réalisations :

Une souche très pathogène de *F. necrophorum* a été isolée dans un cas de bronchopneumonie nécrobacillaire chez un boeuf. L'isolat contenait des exopolymères bien définis de type acide-polysaccharide comme l'ont montré l'examen au microscope électronique et la coloration au rouge de ruthénium.

Une technique de marquage immunologique à l'or pour l'étude en microscopie électronique a été mise au point en vue de la recherche des sites récepteurs sur la membrane de fusobactéries. Ces sites ont une importance au niveau de la formation en "épis de maïs" (corncob). Ces formations correspondent à des interactions cellulaires spécifiques entre les fusobactéries et les streptocoques. Les cellules de streptocoques fixent leurs microfibrilles de façon covalente aux protéines réceptrices de la membrane externe des fusobactéries. La formation en épi de maïs peut être un mécanisme d'infections synergiques chez les fusobactéries.

Chercheurs : M.M. Garcia, B.W. Brooks

8564 Épreuves immunologiques pour la recherche de résidus de produits chimiques dans des échantillons de viande

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Saskatoon

Objectif :
Déterminer les possibilités d'utiliser des épreuves immunologiques pour la recherche de résidus de produits chimiques dans les viandes rouges en mettant au point une méthodes de dosage du zéranol.

Réalisations :

Les travaux se poursuivent sur la mise au point d'une technique de chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse afin de confirmer les résultats obtenus par des dosages radioimmunologiques, étant donné que l'épreuve radioimmunologique mise au point dans ce laboratoire est également sensible aux métabolites du zéranol, y compris la toxine zéralénone présente à l'état naturel. Le laboratoire participe actuellement à une étude de validation d'une méthode de chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse mise au point pour l'U.S.D.A. par l'Université Cornell. On prétend que cette méthode peut déceler et confirmer des taux de diéthylstilbestrol (DES) et de zéranol inférieurs à la partie par milliard.

Chercheurs : J.D. MacNeil, J.R. Patterson, A.C. Fesser, C.D. Salisbury en collaboration avec S.E. Beacom et Z. Mir, Agriculture Canada, Direction générale de la recherche, Station de recherches de Melfort

8571 Influence de facteurs liés aux tissus sur la détection et le dosage de résidus d'antibiotiques dans les tissus animaux par chromatographie sur couche mince-bioautographie

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Saskatoon

Objectif :
Appliquer la chromatographie sur couche mince-bioautographie à la recherche d'antibiotiques dans des échantillons de divers tissus animaux auxquels des antibiotiques ont été administrés; comparer les résultats obtenus avec ces méthodes à ceux des épreuves d'écouvillonnage sur les lieux, d'inhibition microbienne utilisée par la DPV et de confirmations chimiques; et déterminer les effets de l'échantillonnage et de la conservation sur les taux de récupération.

Réalisations :

Des analyses chromatographiques en phase liquide pour la recherche de la chlortétracycline ont porté sur des tissus prélevés chez des porcs auxquels on a administré des doses thérapeutiques. L'antibiotique a été décelé dans les muscles, les reins et le foie de tous les porcs traités, même s'il y avait eu arrêt du traitement sept jours auparavant. On n'a pas décelé de résidus de chlortétracycline dans les tissus de bovins auxquels on avait administré un taux d'antibiotique favorisant la croissance.

On a recherché la présence de chloramphénicol dans les tissus de jeunes veaux 5, 21, 42 et 70 jours après l'interruption du traitement. D'après les résultats, c'est entre 42 et 70 jours après l'interruption du traitement que le taux de résidus tombe sous le seuil de détection fixé à 55 parties par milliard.

On a déterminé des concentrations minimales, décelables pour l'épreuve d'écouvillonnage sur place (STOP), l'épreuve des antibiotiques et des sulfamides chez le veau (CAST) et l'épreuve d'inhibition microbienne utilisée par la Division de la pathologie vétérinaire (DPV), pour 22 antibiotiques pour lesquels on avait proposé des seuils de tolérance. Suite à ces travaux, la Division de l'hygiène des viandes a modifié le milieu utilisé au Canada pour les épreuves STOP dans les abattoirs.

On a injecté aux veaux la dose thérapeutique maximale recommandée d'oxytétracycline et des doses supplémentaires de marquage. On a établi des sensibilités relatives pour les épreuves STOP, d'inhibition microbienne, de bioautographie sur couche mince et de chromatographie liquide à haute pression. Les épreuves biologiques n'étaient pas aussi sensibles que l'épreuve de chromatographie liquide à haute pression dans le cas de l'oxytétracycline.

Chercheurs : G.O. Korsrud, J.D. MacNeil, W.D.G. Yates, J.R. Patterson, C.D. Salisbury en collaboration avec J.M. Naylor, J.M. Bell, Université de la Saskatchewan, S. Beacom, Agriculture Canada, Direction générale de la recherche, Station de recherches de Melfort

8580 Automatisation des systèmes de collecte des données et de préparation de rapports sur les résidus de produits chimiques

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Saskatoon

Objectifs :
Terminer les essais de systèmes de modules de consignation centralisée des échantillons et de systèmes intégrés des sulfamidés et de PCP (pentachlorophénol), avec gestion et fonctions d'assurance de la qualité sur le réseau 3COM. Finir l'évaluation des systèmes en faisant des recommandations pour mettre au point et appliquer le diagnostic une fois ce projet terminé.

Réalisations :

L'évaluation quotidienne du système SDS-16 mis en vigueur en 1985-1986 s'est poursuivie. On a obtenu des informations sur les nouveaux logiciels commerciaux en vue de leur évaluation.

Chercheurs : J.D. MacNeil, A.C. Fesser, J.R. Patterson, C.D. Salisbury, V. Martz en collaboration avec D. Hagborg, R. Rain, Agriculture Canada, Direction des systèmes et des services consultatifs

8598 Immunisation de rats et de porcs contre *Trichinella spiralis spiralis*

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Sackville

Objectif :
Étudier la vaccination de rats et de porcs avec la souche *T. spiralis nativa* par rapport à une dose d'épreuve de *T. spiralis spiralis*.

Réalisations :

On a constaté que des rats et des porcs vaccinés avec de fortes doses de larves infectieuses de *T. spiralis nativa* bénéficiaient d'une protection presque complète lorsqu'ils étaient exposés, un mois plus tard, à *T. spiralis spiralis*. Le nombre de larves fixées dans les muscles des rats et des porcs vaccinés, exposés à une dose d'épreuve, était négligeable et statistiquement comparable alors que l'on a enregistré des taux d'infection hautement significatifs chez des groupes d'animaux non vaccinés soumis à des doses d'épreuve.

Chercheur : H.J. Smith

8601 Enquête sur *Salmonella dublin* en Colombie-Britannique

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Richmond (C.-B.)

Objectif :
Évaluer l'étendue de *Salmonella dublin* en Colombie-Britannique.

Réalisations :

Environ 80 % des échantillons prévus par le plan ont été examinés. Jusqu'à maintenant *Salmonella dublin* a été isolée dans quatre échantillons dont deux provenaient de la même usine produisant de la nourriture pour chiens. À chaque fois, l'organisme provenait de la même ferme. Il s'agit d'une ferme d'élevage de veaux qui souffrent de diarrhée chronique et de pneumonie. Deux veaux ont été dépistés à un abattoir de veaux et on a pu retracer la ferme d'élevage. On n'a décelé aucun autre animal infecté dans cette ferme. On a également dépisté un seul veau porteur de la bactérie lors d'une vente aux enchères; on n'a pas encore réussi à déterminer de quelle ferme il provenait.

Chercheur : Wm.J. Dorward

8602 Dépistage d'*Escherichia coli* produisant une vérotoxine (*VTEC*) dans le lait et les matières fécales de bovins au moyen d'une sonde à ADN pour les gènes de la cytotoxine

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Guelph, Université de Guelph et Université de Toronto

Objectifs :
Déterminer si les bovins constituent un réservoir d'*E. coli* productrice de vérotoxine et évaluer la méthode de la sonde à ADN pour le dépistage de ces agents pathogènes.

Réalisations :

Les premières expériences avec la sonde à ADN ont donné un taux élevé inacceptable de fausses réactions positives. On a alors essayé une méthode rapide utilisant des cellules Vero qui a donné des résultats fiables.

Dans le cadre d'une enquête portant sur 1046 cultures de filtres à lait prélevés dans 464 fermes laitières en Ontario, on a relevé une activité vérotoxique dans 20 échantillons. Parmi ceux-ci, on a isolé 9 souches vérotoxiques d'*E. coli*. Une deuxième étude a porté sur des échantillons de matières fécales de 18 veaux sains provenant d'une ferme expérimentale. Des échantillons ont été prélevés tous les mois pendant trois mois. Le taux mensuel d'infection était compris entre 55 et 75 % avec un taux global de 100 %. Un grand nombre de veaux ont également développé des titres élevés d'anticorps neutralisants la vérotoxine.

Ces études montrent que le lait cru contient des souches d'*E. coli* productrice de vérotoxine et que des veaux normaux au plan clinique peuvent éliminer ces souches dans leurs matières fécales.

Chercheurs : R. Clarke en collaboration avec C.L. Gyles, S. McEwen, V. Gannon, T. Valli, Université de Guelph et S. deGrandis, J. Brunton, Université de Toronto

8604 Comparaison des milieux et des méthodes d'isolement des *Salmonella* dans les produits alimentaires

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Guelph

Objectif :
Réduire le temps nécessaire à l'isolation des salmonelles présentes dans des produits alimentaires.

Réalisations :

Les chercheurs ont mis au point une technique de filtration permettant l'isolement de salmonelles à partir de bouillons pré-enrichis. L'examen de 77 échantillons de viande et de volaille contaminés naturellement et de 55 échantillons contaminés artificiellement a permis l'isolement de *Salmonella* dans 101 échantillons. De ce nombre, 99 ont été isolés par filtration dont 96 % après une période d'incubation de 6 heures. L'utilisation d'un bouillon au tétrathionate avec vert brillant a permis d'isoler la bactérie dans 93 cas, dont 90 % après une période d'incubation de 6 heures. Le bouillon sélénite-cystine a permis d'isoler la bactérie dans 84 cas, 82 % des isolements étant obtenus après une incubation de 6 heures. Le recours au phage Poly O de *Salmonella* a également permis de réduire le temps d'identification. La combinaison de différentes techniques comme la filtration, le phage Poly O ainsi qu'une réduction du nombre d'épreuves biochimiques, peut racourcir jusqu'à 66 heures le traitement et l'identification provisoire des isolats.

Chercheurs : R.B. Truscott, A. M. Lammerding

8608 Mise au point d'une nouvelle méthode d'analyse des résidus d'antibiotiques dans les produits de viande

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Saskatoon

Objectifs :
Mettre au point, éprouver et confirmer des méthodes de dépistage à l'usine et d'analyses en laboratoire qui permettront l'application et le respect des tolérances canadiennes quant aux antibiotiques présents dans les tissus comestibles.

Réalisations :

La chromatographie liquide à haute presssion pour l'analyse quantitative des résidus de tétracyclines étudiée en 1985-1986 est maintenant utilisée couramment. On prépare actuellement une étude de validation interlaboratoire de la méthode qui aura lieu en 1987-1988. Les travaux se poursuivent aussi en vue de l'élargissement de la méthode de dépistage par chromatographie sur couche mince-autobiographie à d'autres antibiotiques car on est arrivé à la conclusion qu'il faudra disposer de plus de modèles de séparation par chromatographie sur couche mince et d'organismes indicateurs pour obtenir une sensibilité maximale pour les vingt-deux antibiotiques dont l'analyse est nécessaire. On a fixé les conditions de formation d'un dérivé pour le dépistage des pénicillines sensibles aux rayons ultraviolets et la séparation de ces dérivés par chromatographie liquide à haute pression. Des travaux sont actuellement en cours en vue de combiner cette technique à une autre d'extraction appropriée et d'épuration des échantillons de tissus. On a procédé à une évaluation de la chromatographie sur couche mince-bioautographie et de la chromatograhie liquide à haute pression pour le monensin à l'aide de tissus enrichis. On s'efforce actuellement de vérifier les possibilités d'application des méthodes à des échantillons de tissus de poulets provenant d'oiseaux auxquels on a déjà administré des antibiotiques. On analyse également, dans le cadre d'un projet de recherche effectué en collaboration avec la Station de recherches de Kentville, des échantillons de tissus provenant de poulets auxquels on a administré différents antibiotiques favorisant la croissance.

Chercheurs : J.D. MacNeil, J.R. Patterson, C.D. Salisbury, A.C. Fesser, V. Martz en collaboration avec H.W. Hulan, Station de recherches de Kentville, Agriculture Canada, P. Vander Kop, étudiant de deuxième cycle, toxicologie, Université de la Saskatchewan

8609 Mise au point d'une nouvelle méthode d'analyse des résidus autres que d'antibiotiques dans la viande et les produits de viande

Lieu de la recherhce : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Saskatoon

Objectif :
Mettre au point des méthodes d'analyse chimique fiables, à l'appui des services de diagnostic, en vue du dosage des résidus de médicaments vétérinaires et de polluants environnementaux.

Réalisations :

On a appliqué une méthode de chromatographie en phase gazeuse pour le dosage des résidus du métabolite de type hydroxy du dimétridazole. Son seuil de détection est de 0,5 partie par milliard. Une enquête pilote sur le foie de porc est en cours.

Afin de répondre à une demande croissante pour l'analyse de pesticides et de BPC dans des échantillons d'animaux sauvages, l'analyse des résidus de pesticides du laboratoire a été étendue aux tissus ne contenant pas de matières grasses et aux liquides biologiques. Grâce à ces travaux, nous avons pu procéder à une analyse urgente pour l'Hôpital universitaire de Saskatoon dans deux cas

distincts d'intoxication d'enfants par le lindane. On a également utilisé une méthode de dosage des résidus de carbofuranne pour analyser plusieurs échantillons toxicologiques envoyés par le Western College of Veterinary Medicine. La chromatographie sur gel combinée à la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse a été utilisée avec succès pour analyser des échantillons d'animaux sauvages lorsque l'on soupçonnait une intoxication par des organophosporés.

Chercheurs : J.R. Patterson, J.D. MacNeil, A.C. Fesser, V.K. Martz, C.D. Salisbury

8610 Mise au point de méthodes en vue d'un meilleur dépistage de campylobactéries chez les animaux et dans les produits alimentaires et du diagnostic des infections à *Campylobacter*

Lieu de la recherhce : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Mettre au point des méthodes plus rapides, sûres et rentables de dépistage et de récupération; mettre au point des systèmes fiables d'identification et de typage; entreprendre des études sur la physiologie et la croissance en vue d'une meilleure production d'antigènes; et développer des méthodes d'évaluation de vaccins ou y participer.

Réalisations :

Les profils de protéines et de lipopolysaccharides révélés par la technique SDS-PAGE (électrophorèse sur gel de polyacrylamide) sont utilisés pour identifier *Campylobacter coli* et *C. jejuni* et pour rechercher l'existence d'antigènes communs. Dix isolats de *C. coli* sensibles à la céphalothine prélevés chez des bovins d'abattoir, appartenant tous au sérogroupe 20, avaient un profil identique de protéines et de lipopolysaccharides. Deux autres isolats du sérogroupe 26 possédaient des profils protéiniques et polysaccharidiques semblables l'un à l'autre mais qui les distinguaient des autres isolats. Les profils obtenus par la technique SDS-PAGE permettent de prévoir le sérogroupe. Ces résultats ont été confirmés par d'autres isolats des sérogroupes 20 et 26 provenant de plusieurs autres pays. La technique de l'immunoempreinte à l'aide de sérums non absorbés contre plusieurs sérogroupes isolés fréquemment chez l'homme a indiqué la présence d'antigènes communs. Ce résultat peut être utile pour déterminer la présence de campylobactéries dans la viande et les produits alimentaires.

Les profils plasmidiques des souches de *C. coli* résistantes et sensibles à la céphalothine étaient identiques et il semble probable que les gènes de cette résistance se trouvent sur le chromosome.

L'utilisation de disques filtrants (0,45 pm) a permis de déceler la présence de campylobactéries dans des échantillons de prépuce et de viande contenant une charge de 10^5-10^6 cellules de *Campylobacter*.

On a procédé à l'évaluation, dans le cadre de l'étude de courbes de croissance, d'un milieu à base de bouillon de culture pour *Brucella*. La phase exponentielle de croissance d'une culture endogène était d'environ 8 heures. La croissance maximale a été atteinte après environ 36 heures, le dénombrement des cellules viables étant d'environ 10^8.

On évalue actuellement une méthode de sérotypage de *C. fetus* subsp. *venerealis* par des épreuves d'agglutination sur lame portant sur 40 souches canadiennes et mondiales; on a éliminé 8 sérogroupes basés sur des antigènes thermolabiles et de 2 ou 3 sérogroupes basés sur des antigènes thermostables. Les résultats obtenus par la technique SDS-PAGE montrent que la variabilité des profils protéiniques des cellules chez les souches de *C. fetus* est plus importante que chez les souches de *C. jejuni* et *C. coli*.

Des souches de *C. fetus* subsp. *venerealis* ont été traitées pour être tolérantes à la glycine : 56 % des souches n'ont pas poussé dans un milieu contenant 1 % de glycine; 18 % ont poussé dans un milieu en contenant 1 %, et 26 % ont poussé dans un milieu en contenant 1,3 %. Il n'y a eu aucune croissance dans le cas d'une concentration supérieure. On recommande une concentration limite de 1,5 % de glycine plutôt que 1,0 % pour la différentiation des espèces de *C. fetus*.

Il est possible d'utiliser la chromatographie en phase gazeuse pour confirmer les cultures de *C. jejuni* et *C. coli* donnant des résultats ambigus dans le cas du test rapide d'hydrolyse de l'hippurate. Un service a été mis sur pied pour aider les laboratoires de bactériologie des viandes qui ont des problèmes avec les cultures douteuses à l'égard de l'hippurate.

Chercheurs : M.M. Garcia, R.B. Stewart, K.L. Malkin, A.D.E. Fraser, B.W. Brooks, M.D. Eaglesome

III Maladies indigènes couvertes par un programme

8517 Études sur la pathogenèse de la rage chez les mouffettes

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Déterminer si le changement spongiforme dû à la rage dépend des souches virales, déterminer l'ampleur des lésions dans les cas d'infection naturelle, étudier la pathogenèse de cette lésion en vue de déterminer les mécanismes immunologiques engagés dans la suppression immunitaire de l'infection de la glande salivaire, vérifier la fréquence de ce phénomène dans les cas spontanés, et collaborer à la mise au point de vaccins contre la rage pour les animaux sauvages.

Réalisations :

Le 1er juin 1986 la section travaillant sur la rage a adopté officiellement une nouvelle épreuve de culture tissulaire du virus de la rage pour remplacer le test d'inoculation de la souris en vue du diagnostic de la rage. La nouvelle épreuve permet d'obtenir les résulats en 4 ou 5 jours au lieu de 15 à 30 jours et permet une économie d'environ 35 à 40 000 $ en animaux et en matériel.

Des études des lésions spongiformes de la rage montrent qu'il faut une infection rabique du système nerveux central pour qu'il y ait production d'un changement spongiforme. Toutefois, dans les régions cérébrales particulières porteuses de cette lésion, il n'y a aucune corrélation avec la quantité d'antigène rabique. Il semble donc que la présence de l'antigène dans les neurones dans lesquels les vacuoles se forment ne soit pas nécessaire au développement du

changement spongiforme. Elles sont sans doute un effet indirect de la rage dans d'autres parties du cerveau. Cette observation peut être importante dans le cadre d'études comparatives de la pathogenèse de la modification spongiforme causée par d'autres agents (par ex. : encéphalopathie spongieuse subaigüe).

Les lésions spongiformes de la tremblante chez les mouffettes ont été comparées à celles causées par la rage. En général, les lésions spongiformes causées par la tremblante étaient plus étendues et la proportion de petites vacuoles était plus élevée par rapport à celles observées dans les cas de rage.

Des études se poursuivent sur le recombinant du virus de la vaccine contenant la glycoprotéine du virus de la rage. Jusqu'à maintenant, il s'agit du seul vaccin expérimental antirabique qui ait donné un taux élevé de réponses immunitaires chez les mouffettes auxquelles le vaccin antirabique a été administré par voie orale.

Chercheurs : K.M. Charlton, G.A. Casey, W.A. Webster et A. Bunoza

8521 Diagnostic sérologique de la brucellose

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Caractériser et expliquer les réactions des antigènes de *Brucella abortus* dans le but d'améliorer les méthodes de diagnostic.

Réalisations :

En 1932, Wilson et Pirie ont identifié un antigène "A" de *B. abortus* et un antigène "M" de *B. melitensis*. Notre groupe a maintenant identifié ces antigènes comme des polysaccharides à chaîne O. Les structures moléculaires des polysaccharides montrent que la sérologie différente des antigènes est attribuable à des "enroulements" dans les polymères.

Le mécanisme de réactions croisées entre *B. abortus* et *B. melitensis*, aussi bien qu'avec d'autres organismes (par ex. *Yersinia enterocolitica* 0:9, *Vibrio cholera*, *E. coli* 0157:H7, *Salmonella landau*) peut maintenant être attribué à la découverte du fait que les chaînes-O des lipopolysaccharides possèdent les mêmes sucres et les mêmes liaisons.

Un composé "poly-B" a été décrit comme composé de glucose, mais présentant une réactivité croisée avec la chaîne-O de *Brucella*. Nous avons établi que ces préparations étaient des mélanges possédant des polymères de B-glucose (principal composant) et des chaînes-O (ingrédient antigéniquement actif).

Les sérums provenant d'animaux infectés par *B. abortus* peuvent être différenciés de ceux provenant d'animaux vaccinés dont le titre est élevé. Les sérums d'animaux infectés réagissent avec la chaîne-O alors que les sérums d'animaux vaccinés ne réagissent pas. Une telle discrimination peut s'effectuer par la méthode d'Outcherlony ou par une ELISA élaborée. Il peut s'agir d'un modèle pour différencier les animaux vaccinés des animaux infectés par d'autres maladies.

Chercheurs : J.W. Cherwonogrodzky, K.H. Nielsen, P.F. Wright, E.A. Sugden, en collaboration avec M.B. Perry et D.R. Bundle, Conseil national de recherches du Canada

8523 Mise au point d'une méthode immunoenzymatique et application à la brucellose bovine

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Dresser des protocoles d'épreuves de diagnostic immunoenzymatique pour la recherche d'anticorps dirigés contre *B. abortus* dans le sérum et le lait des bovins, et évaluer la possibilité d'utiliser les antigènes glucidiques hautement purifiés de *Brucella* dans des épreuves de diagnostic.

Réalisations :

Ce projet a abouti au transfert de l'épreuve immunoenzymatique de recherche au diagnostic en laboratoire. Huit laboratoires de diagnostic de la Division de la pathologie vétérinaire ont bénéficié de ce transfert de technologie, qui comprenait non seulement le transfert d'une nouvelle méthode d'analyse mais de nouveaux instruments, des micro-ordinateurs, l'automatisation et le contrôle de la qualité.

Les représentants de chacun des laboratoires ont reçu une semaine de cours de formation à l'Institut de recherches vétérinaires à Nepean. Cette semaine a été suivie par une période de familiarisation avec les techniques dans chacun des laboratoires. Des spécialistes se sont rendus dans les laboratoires qui éprouvaient des difficultés.

Plusieurs problèmes ont été identifiés, certains concernant les épreuves et les appareils en général et d'autres concernant l'épreuve elle-même pour *Brucella*. Des mesures correctrices ont été apportées.

L'expérience inestimable acquise par ce premier transfert de la technique de l'immnuoenzymologie facilitera la transition des prochaines épreuves.

Le transfert de technologie est un engagement continue. Les domaines particuliers comprennent l'automatisation, la manipulation de liquide, la recherche des échantillons, le contrôle de la qualité inter-laboratoire et l'accrédiation des laboratoires. L'aide de l'informatique demeure un point central puisqu'il s'agit d'un domaine continuellement en perfectionnement et en expansion.

Chercheurs : P.F. Wright, J. Cherwonogrodsky, K.H. Nielsen, E.A. Sugden, J.R. Duncan

8541 Caractérisation de l'agent étiologique de la tremblante

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Lethbridge

Objectif :
Tenter d'isoler et de caractériser l'agent étiologique de la tremblante afin d'en déterminer les mécanismes pathogènes et de pouvoir formuler des recommandations sur la lutte contre cette maladie et son éradication.

Réalisations :

Les recherches ont permis de découvrir au moyen de la technique du "Western blotting" (tache western) un anticorps polyclonal dirigé contre les protéines des fibrilles associées à la tremblante (SAF) qui réagissait très souvent et de façon reproductible avec une protéine cellulaire de l'hôte, d'un poids moléculaire apparent de 28K dalton, provenant du cerveau de hamsters sains et de hamsters infectés par la tremblante. L'antisérum polyclonal n'a pas identifié la "protéine précurseur" de poids moléculaire compris entre 33K et 35K. L'anticorps dirigé contre un polypeptide de synthèse de 16 amino-acides a été fabriqué chez deux lapins et est en cours d'étude. Ce peptide de synthèse a été préparé à partir de la séquence d'amino-acides déjà connue d'un polypeptide du SAF. L'inoculation à des hamsters a permis de constater que l'anticorps polyclonal dirigé contre les protéines du SAF ne neutralisait pas l'infectivité de la tremblante.

Une "bibliothèque" d'acides nucléiques a été extraite des préparations de fibrilles associées à la tremblante et à laquelle s'ajoute l'infectivité de la tremblante. À l'aide d'une poly (A) polymérase, la poly A peut être adaptée aux acides nucléiques extraits. Par la technique de l'ADN recombinant, on a monté une bibliothèque de cADN à double brin. Le cADN a été lié au vecteur pUC 13 et cloné dans des cellules hôtes JM83. On a étudié la bibliothèque de clones de cADN afin d'identifier le gène spécifique de la tremblante.

Chercheur : H.J. Cho

8554 Étude descriptive et épizootiologique de la brucellose et de la tuberculose chez le bison (*Bison bison*) du nord du Canada

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Saskatoon

Objectifs :
Déterminer l'occurence, la prévalence et la distribution de la brucellose et de la tuberculose chez le bison des bois, trouver les hôtes de la brucellose et de la tuberculose chez les mammifères sauvages et leur importance éventuelle en tant que porteurs et réservoirs, déterminer les biotypes de *Brucella abortus* présents et leur distribution géographique et par espèce, et déterminer les effets pathologiques de la brucellose et de la tuberculose chez le bison naturellement infecté et chez d'autres animaux sauvages.

Réalisations :

Des nécropsies ont été pratiquées sur 20 bisons des bois de race, et on a recueilli du sérum chez 10 autres animaux immobilisés chimiquement, provenant du refuge de bisons du Mackenzie près de Fort Providence (Territoires du Nord-Ouest). Tous les animaux étaient en bonne santé et il n'y avait aucune trace macroscopique de brucellose ou de tuberculose, ce qui a été confirmé par des études histologiques, bactériologiques et sérologiques. Ces données montrent que la brucellose et la tuberculose ne sont pas des maladies enzootiques, et il est probable qu'elles sont absentes dans cette population de 1 700 bisons des bois. La présence de bisons hybrides malades à proximité du Parc national de Wood-Buffalo et des basses terres de la rivière des Esclaves représente donc une menace pour la santé et l'intégrité génétique de cette population de bisons qui s'accroît rapidement dans le refuge et à l'extérieur de celui-ci.

Chercheurs : S.V. Tessaro, L.B. Forbes, C. Turcotte en collaboration avec G.A. Wobeser, Université de la Saskatchewan, et C. Gates, Service de la faune des Territoires du Nord-Ouest.

8570 Applications de la biotechnologie au diagnostic et au contrôle de la brucellose

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Créer des souches avirulentes génétiquement modifiées de *Brucella abortus* pour la production de vaccins et de réactifs améliorés; mettre au point des méthodes et des réactifs pour un diagnostic rapide, sûr et précis de la brucellose.

Réalisations :

L'année dernière nous avons purifié l'ADN du phage tb, montré qu'il différait de l'ADN de la cellule-hôte par analyse de l'endonucléase de restriction, et préparé une sonde d'ADN qui peut le déceler en présence de grandes quantités d'ADN de la cellule-hôte. C'est la première fois que nous avons pu montrer que des brucelles pouvaient accepter, maintenir et transférer des plasmides et intégrer l'ADN du plasmide, sans effet apparent sur les caractères de la cellule-hôte. Nous avons cloné l'ADN de *B. abortus* dans *E. coli*, entrepris le dépistage des clones recombinants, et formulé, pour l'année qui vient, des stratégies en vue de l'établissement de nouvelles souches de *Brucella* par mutagenèse de transposons et remplacement de gènes. Nous avons également amélioré l'épreuve immunologique basée sur un morceau de tissu visant à déceler la présence d'antigènes de *Brucella* en utilisant un tissu de polypropylène comme phase solide.

Chercheurs : C.E. Rigby, A.D.E. Fraser et M.L. Cerqueira-Campos, détenteur d'une bourse de perfectionnement postdoctoral du CRSNG, en collaboration avec H. Yamasaki, Université Carleton.

8579 Fabrication d'anticorps monoclonaux pour épreuves de liaisons primaires, épreuve immunoenzymatique pour la recherche de *Brucella* et détection d'antigènes

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Évaluer des anticorps monoclonaux qui serviront aux épreuves immunoenzymatiques de diagnostic pour rechercher la présence d'anticorps dirigés contre *Brucella abortus* dans le sérum de bovins. Concevoir et évaluer des techniques immunoenzymatiques afin de différencier les anticorps produits par le bétail vacciné avec la souche 19 de *Brucella abortus* et ceux produits par les animaux infectés naturellement. Fabriquer et évaluer des anticorps monoclonaux dirigés contre *Mycobacterium paratuberculosis* et des anticorps anti-idiotypiques dirigés contre les anticorps anti-*Brucella abortus*.

Réalisations :

Des anticorps monoclonaux dirigés contre les déterminants des chaînes légères et des chaînes lourdes des IgM, IgG2 et IgA ont été fabriqués. On a évalué leur spécificité. Les réactifs ci-dessus ont été conjugués à la peroxydase de raifort, à la phosphatase alcaline et à de l'isothiocyanate de fluorescéine. Ces réactifs sont à l'étape finale de l'évaluation pour les épreuves immunoenzymatiques de diagnostic des anticorps bovins dirigés contre *Brucella abortus* et *Mycobacterium paratuberculosis*. Deux épreuves immunoenzymatiques de différentiation des anticorps produits par des bovins vaccinés ou infectés sur le terrain par *Brucella abortus* ont été mises au point par nos chercheurs. Les deux épreuves utilisent la chaîne-O purifiée dirigée contre le lipopolysaccharide préparé à partir de la souche 1119.3. L'une des épreuves est une lignée indirecte utilisant l'anticorps monoclonal dirigé contre la chaîne légère bovine conjuguée à la peroxydase de raifort comme réactif de détection alors que l'autre épreuve, de type compétitif, fait appel à l'anticorps monoclonal dirigé contre le lipopolysaccharide conjugué à la peroxydase de raifort. Il semble que les deux épreuves donnent de bons résultats en milieu expérimental. Les anticorps monoclonaux dirigés contre *Mycobacterium paratuberculosis* sont actuellement évalués sur le plan de leur capacité à déceler l'antigène dans le cadre d'une épreuve immunoenzymatique de type capture. L'anticorps anti-idiotypique contre l'anticorps anti-*Brucella abortus* est étudié dans le cadre d'une épreuve immunoenzymatique compétitive.

Chercheurs : K. Nielsen, J.R. Duncan, P.F. Wright, A.M.P. Bouillant

8583 Production d'antigènes viraux par des techniques moléculaires et diagnostic

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Développer des systèmes cellulaires permettant un rendement élevé de rétrovirus; optimiser la production d'antigènes de rétrovirus dans des cultures en suspension; purifier et concentrer des antigènes de rétrovirus aux fins de diagnostic; mettre au point des méthodes microsérologiques de dépistage des virus Maedi-Visna, de l'arthrite-l'encéphalite caprine et des Maedi-Visna-like des bovins.

Réalisations :

Des études portant sur le contrôle de la qualité de la production de l'antigène du virus de l'anémie infectieuse équine ont montré en outre la persistence de l'infection virale et de la libération d'antigènes chez plus de 165 sous-cultures. La lignée cellulaire a été cultivée dans une culture en suspension et dans un milieu sans sérum, ce qui réduit le coût de production et améliore la qualité et la purification du produit final. La spécificité de l'antigène a été démontrée par l'absence de réactions croisées avec d'autres rétrovirus.

Chercheurs : A.M.P. Bouillant, K. Nielsen, G.M. Ruckerbauer

8603 Amélioration des méthodes bactériologiques et sérologiques servant au diagnostic et à la caractérisation des *Brucella spp.* qui contamine les animaux sauvages et domestiques

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Saskatoon

Objectifs :
Caractériser des isolats de *Brucella*. notamment ceux prélevés chez des espèces sauvages; évaluer et comparer des méthodes d'isolation primaire de *Brucella spp.*; évaluer le système ELISA pour *Brucella* qui sera utilisé pour des échantillons de sérum provenant d'animaux sauvages, notamment ceux qui seraient considérés comme inappropriés pour les épreuves classiques; établir le pouvoir pathogène de *B. suis* biotype 4 chez les bovins, les moutons, et les porcs.

Réalisations :

Il a été démontré que les isolats atypiques de *B. abortus* biotype 2 observés au Canada sont identiques à ceux observés aux États-Unis et que les isolats obtenus dans les deux pays peuvent être un nouveau biotype (travaux effectués en collaboration avec le National Veterinary Services Laboratory, Ames (Iowa). La caractérisation des deux seuls isolats de *B. canis* canadiens connus a montré qu'il s'agissait de deux souches distinctes et apparemment stables, l'une étant similaire aux isolats américains d'origine et l'autre, aux souches isolées au Mexique. Les deux souches *B. abortus* et *B. canis* caractérisées peuvent servir de marqueurs épidémiologiques utiles.

Le traitement des tissus par centrifugation rapide est supérieur à la technique classique de broyage ou d'homogénéisation des tissus en vue de l'isolement primaire de Brucella. Selon cette technique, les tissus sont homogénéisés dans un digesteur, puis centrifugés à 800 g pendant 10 minutes. Le surnageant est centrifugé de nouveau à 2 000 g pendant 20 minutes et le sédiment ainsi obtenu est utilisé comme inoculum.

Chercheurs : L.B. Forbes, S.V. Tessaro

IV Maladies indigènes non couvertes par un programme

8502 Maladie de Johne : Relation avec les méthodes de diagnostic et les mécanismes immunopathologiques de la paratuberculose bovine, ovine et caprine.

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectif :
Améliorer les épreuves de diagnostic et les méthodes prophylactiques pour lutter contre la paratuberculose dans le cheptel national.

Réalisations :

Améliorations des méthode de culture

Pour la récupération de bactéries *M. paratuberculosis* contenues dans des prélèvements fécaux chez les bovins, la centrifugation et la décontamination pendant 24 heures se sont révélées supérieures à la sédimentation et à la décontamination pendant 24 ou 48 heures.

Le kétoconazole a empêché la contamination fongique chez certains spécimens mais n'a pas inhibé *M. paratuberculosis*. Toutefois, il s'agit d'un produit fongistatique dont l'activité est nulle après une incubation prolongée.

Les tentatives visant à améliorer les méthodes de culture des souches provenant de petits ruminants ont été infructueuses.

Expériences de provocation par voie orale

Provocation par voie orale chez la chèvre (0,1 mg du sérotype aviaire 2) : L'autopsie a montré que comparativement aux expériences antérieures avec des doses plus élevées, le développement de la maladie a pris plus de temps et était moins grave. *M. avium* a été isolé dans des prélèvements fécaux 4, 6, 8 et 12 semaines après l'inoculation. Cette bactérie a été isolée dans au moins une des structures suivantes : foie, rate, rein, ganglions mésentériques, iléon. La plupart des bactéries ont été isolées dans les deux dernières. D'après les épreuves sérologiques (IDG et FC), le taux de séroconversion à l'antigène "D" serait supérieur à 50 %, mais le taux de séroconversion à l'antigène "carbo" serait faible. Ces résultats confirment les résultats obtenus antérieurement selon lesquels le sérotype aviaire 2 induit une réaction positive dans le cas de l'immunodiffusion en gélose (IDG) pour la bactérie de la paratuberculose.

Provocation par voie orale chez le mouton (0,1 mg ou 0,01 mg du sérotype aviaire 2) : Des organismes ont été isolés dans des prélèvements fécaux (5 à 6 semaines après l'inoculation) et dans les tissus de 2 des 4 animaux auxquels on a administré la dose la plus forte. À l'autopsie, on a observé des lésions macroscopiques chez les deux animaux. L'immunodiffusion en gélose a permis d'observer une séroconversion chez les deux animaux mais l'épreuve de stimulation des lymphocytes a montré que tous les animaux qui ont reçu la dose la plus forte étaient infectés et qu'ils pouvaient être distingués des témoins négatifs, du groupe des témoins de contact et du groupe exposé à la dose la plus faible.

Épreuve de provocation chez les agneaux nouveau-nés (0,1 mg ou 0,01 mg de *M. avium*) : *M. avium* a été isolée dans les tissus et les matières fécales de tous les agneaux auxquels on a administré la dose la plus forte. On a isolé un nombre plus faible de *M. avium* dans les tissus de deux animaux et les matières fécales d'un animal du groupe qui a reçu la dose la plus faible.

Épreuve de provocation par voie orale chez la chèvre (souche caprine de *M. paratuberculosis*) : Aucun signe clinique n'a été observé chez les deux chèvres auxquelles on a administré cette souche en juillet 1985. *M. paratuberculosis* a été isolée régulièrement chez une chèvre depuis décembre 1985 et, chez l'autre, depuis mai 1986.

Agneaux nouveau-nés (souches bovines et caprines *de M. paratuberculosis* – 10 mg) : On a isolé *M. paratuberculosis* dans les matières fécales d'agneaux 5, 6 et 8 semaines après leur avoir administré la souche bovine, mais non chez ceux qui avaient reçu la souche caprine. Des réactions à l'épreuve de stimulation des lymphocytes ont été enregistrées chez les agneaux qui ont reçu la souche bovine, mais non chez ceux qui ont reçu la souche caprine.

Épreuve de provocation (voie IP) par *M. avium* et *M. paratuberulosis* (souches bovine et caprine) chez des poulets : Des lésions ont été observées seulement chez les cadavres d'animaux exposés à *M. avium*. On a récupéré des *M. avium* dans la rate et le foie de 2 volatiles, mais aucune *M. paratuberculosis* n'a été isolée dans la rate ou le foie des quatres volatiles.

Caractérisation des isolats de M. paratuberculosis

Les profils protéiniques de la plupart des 100 isolats bovins étaient semblables lorsque les préparations cellulaires étaient traitées par la technique SDS-PAGE. Cinq isolats présentaient des profils protéiniques différents.

On a procédé à des essais pour déceler la présence de plasmides chez *M. paratuberculosis*. Les méthodes ordinaires d'extraction de l'ADN chez *E. coli* ne conviennent pas aux mycobactéries. Les cellules recueillies ont subi un traitement 1) au chloroforme et au phénol, 2) à un détergent et un choc osmotique et 3) à la lipase. L'ADN chromosomique a été isolé par traitement avec un détergent et administration d'un choc osmotique ou un traitement à la lipase suivi d'une lyse par un détergent. On n'a pas encore décelé des plasmides.

Purification des antigènes

L'emploi de l'antigène de type lipoarabinomannane (LAM) pour l'épreuve ELISA (LAM-ELISA) en vue du diagnostic sérologique de la paratuberculose ovine a doublé et même triplé la sensibilité par rapport à l'épreuve de la fixation du complément. La combinaison de la technique du LAM-ELISA à l'immunodiffusion en gélose a augmenté la spécificité permettant de déceler les anticorps dirigés contre l'antigène "D". On a établi, dans des études d'infections mixtes (paratuberculose et adénite caséeuse ou infections à Maedi-Visna) et de l'effet de l'âge (en particulier dans des petits troupeaux infectés), des valeurs réduites pour l'épreuve LAM-ELISA . L'hétérogénéité physique de l'antigène LAM a été étudiée et les antigènes "A" et "D" sont purifiés afin d'accroître la sensibilité de la détection de la paratuberculose par la technique ELISA.

Analyse de l'antigène

La réaction sérologique d'un groupe de 74 moutons à *M. paratuberculosis* a été évaluée par la technique de l'immunoélectrophorèse à contre-courant (IEC). L'IEC a confirmé les résultats obtenus par l'IDG indiquant une forte réactivité des animaux positifs (d'après des données histopathologiques) à l'antigène "D" de la paratuberculose. La sensibilité et la spécificité de l'antigène "D" utilisé pour le diagnostic sérologique de la paratuberculose étaient respectivement de 86,4 % et 92,3 % par la technique de l'IEC comparativement à 81,8 % et 88,5 % par la technique de l'IDG. L'importance de la réaction à l'antigène "D" correspond bien à la charge en bactéries.

Il semble que l'antigène "D" de *M. paratuberculosis* identifié par IEC corresponde à une bande de poids moléculaire élevé sur SDS-PAGE. Cette bande se dissocie si on la porte à ébullition dans un tampon de lyse SDS. Les fractions protéiniques et glucidiques obtenues par filtration et sonication de cultures de *M. paratuberculosis* ont été identifiées par la technique SDS-PAGE. Les sérums de mouton examinés par IEC ont été analysés par la technique des immunoempreintes avec des préparations d'antigènes provenant du filtrat de cultures et de sonication d'une souche expérimentale de *M. paratuberculosis*.

Études de *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Des études ultrastructurales de souches uréase positives et négatives ont montré que les parois cellulaires étaient semblables à des organismes gram-positifs et ont mis en évidence la présence d'une capsule acide-polysaccharide colorée au rouge de ruthénium. Les cellules cultivées sur milieux solides, contenant 1 % de Tween 80, formaient une prolifération confluente et présentaient une capsule colorée au rouge de ruthénium plus mince que celle de cellules cultivées dans un milieu sans détergent. Ces résultats ont servi à évaluer les milieux utilisés pour la production d'antigène de type glucide. La lipoarabinomannane (LAM) a été extraite de deux lots de cellules de *C. pseudotuberculosis* provenant de cultures en vrac, de la même manière que dans le cas de *M. paratuberculosis*. Le rendement en LAM des corynébactéries était inférieur à celui de *M. paratuberculosis*.

Études à long terme portant sur le troupeau atteint de paratuberculose de l'Institut de recherches vétérinaires

La surveillance mensuelle de 30 bovins s'est poursuivie par culture des matières fécales, étude sérologique et stimulation des lymphocytes. Cette population comprend des animaux âgés de 2 à 10 ans, nés à l'Institut ou élevés à l'Institut depuis leur naissance. Quatorze de ces animaux n'ont été exposées directement qu'à leur mère. Tous, sauf une mère, éliminaient de façon intermittente un faible taux de bactéries fécales.

Études sur la paratuberculose dans des troupeaux industriels de moutons

Aucune réaction aux virus Maedi-Visna n'a été relevé dans le troupeau à l'étude. On constate seulement que des individus réagissent faiblement aux *M. paratuberculosis* par la méthode de l'immunodiffusion en gélose. Ces animaux ont été sélectionnés de même que ceux dont le rendement était faible et les animaux soupçonnés de porter la maladie.

Le rendement des épreuves de diagnostic ordinaires et nouvelles, ainsi que l'évaluation de nouveaux antigènes, sont en cours à l'aide d'un deuxième troupeau.

Chercheurs : J.R. Duncan, B. Brooks, A.H. Corner, A. Fraser, M.M. Garcia, J. Stevens, E.A. Sugden, C. Turcotte

8530 Mortalité périnatale : rôle de la mortalité périnatale, de la maturation et de l'adaptation dans les décès d'animaux nouveau-nés

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
L'objectif global est de déterminer les causes de la mortalité périnatale chez le porc et les bovins afin de trouver une façon rationnelle de réduire les pertes durant les 48 heures qui suivent la naissance.

Réalisations :

La mort des porcelets au moment de la parturition ou immédiatement après la naissance représente l'un des coûts les plus importants pour l'éleveur. (Près de 55% des décès de nouveau-nés ont lieu dans les 48 heures qui suivent la naissance.) C'est pourquoi ce projet avait pour but d'accroître nos connaissances des facteurs qui contrôlent la maturation du foetus, le moment de la parturition et ses aspects biophysiques afin de réduire ce genre de pertes.

Les études sur la maturation du foetus ont porté sur le contrôle du dépôt des réserves en glycogène, qui constituent le principal apport d'énergie après la naissance et qui sont sous l'influence des taux d'hormones foetales et des concentrations nutritionnelles. Les concentrations de glycogène dans le foie et les muscles sont réduites et la teneur en glycogène dans les poumons demeure élevée chez le foetus dont l'hypophyse a été détruite en raison d'une maturation anormale. La perfusion de glucocorticoïdes aux foetus hypophysectomisés a augmenté la teneur en glycogène dans le foie et les muscles et réduit la teneur en glycogène dans les poumons. Il semble donc que la glande surrénale du foetus soit une voie importante d'action de l'hypophyse.

Le rôle de la prostaglandine F (PGF) produite par l'utérus pour induire la parturition chez les porcs a été étudié en injectant de petites doses de PGF dans une veine utérine (25-200 pg/10 min/h pour une quantité de 10 h) et en observant les modifications endocriniennes par le prélèvement d'échantillons à intervalle rapproché. Les truies ont mis bas en moins de 30 h pour toutes les plages de concentrations, mais les profils de concentrations de progestérone, de relaxine et de prolactine variaient nettement. Les concentrations les plus faibles (25-50 pg/h) ont provoqué des "pics" distincts du taux physiologique de relaxine et de prolactine et des pics de courte durée (52/15 min) de métabolite de la PGF. Ces méthodes peuvent fournir un modèle plus physiologique d'étude de la parturition chez le porc. On a mis au point des méthodes de culture à court terme de cellules placentaires *in vitro* pour étudier les variations de la production de prostaglandine en fin de gestation et pendant le travail. Aucune modification significative de la production de prostaglandines E et F n'a été observée, mais une baisse de la production de prostaglandine (éprouvée sous forme de son métabolite PG 6-Kets Fix) a été enregistrée dans tout le tissu placentaire recueilli au cours du travail.

Chercheur : G.C.B. Randall

8533 Études de la leucose lymphoïde du poulet

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Mettre au point des techniques rapides de diagnostic utilisables par l'industrie pour contrôler la leucose lymphoïde; créer des méthodes d'évaluation *in vitro* de la résistance génétique aux virus de la leucose aviaire, et déterminer la pathogenèse de la leucose lymphoïde.

Réalisations :

Les chercheurs ont poursuivi une expérience à grande échelle visant à l'éradication du virus de la leucose aviaire chez les troupeaux reproducteurs du Centre de recherches zootechniques. Cette expérience comprenait la recherche chez environ 15 000 oeufs de l'antigène viral spécifique de groupe par la technique ELISA et l'essai chez divers spécimens par la technique du mélange phénotypique. À l'aide de ces épreuves de recherche de l'antigène viral dans les oeufs, l'incidence de l'infection dans les stocks de pondeuses a été réduite de façon significative. Par contre, le

pourcentage de poulets de chair qui produisent des oeufs positifs pour l'antigène viral n'a pas été réduit, sans doute parce que l'antigène des oeufs provenant de stocks de poulets de chair résultait de l'expression de gènes viraux endogènes.

Il a été établi que des vésicules de la membrane cellulaire sont des constituants normaux des macrophages médullaires de la bourse de Fabricius, et il a été montré que ces vésicules jouent un rôle particulier au niveau de la réplication du virus de la leucose aviaire.

La susceptibilité à l'infection par le virus de la leucose des poulets porteurs du gène de l'emplumement lent a été comparée aux poulets à emplumement rapide provenant d'un même stock génétique. Les recherches de l'antigène viral, du virus et de l'anticorps ont montré que tous les poulets étaient sensibles à l'infection, mais qu'un plus fort pourcentage de poulets à emplumement lent que de poulets à emplumement rapide présentait une virémie 20 semaines après l'inoculation. D'après ces résultats, il semble que les poulets à emplumement lent étaient moins efficaces que ceux à emplumement rapide pour élaborer une réponse immunitaire contre l'infection.

Les chercheurs ont terminé des études histologiques et ultrastructurales sur des tumeurs lymphoïdes présentes chez des poulets exempts d'agent pathogène spécifique de l'Institut de recherches vétérinaires. Ils ont conclu qu'il s'agissait de tumeurs caractéristiques de la leucose lymphoïde. Aucune particule virale n'a été trouvée dans le tissu lymphoïde, ce qui étaye les données antérieures selon lesquelles les tumeurs n'étaient pas induites par des virus oncogènes aviaires exogènes.

Dans le cadre d'études effectuées conjointement avec le Centre de recherches zootechniques et le Ministère américain de l'agriculture (USDA) au Michigan, les premières données obtenues montrent que, chez une lignée de poulets, des gènes endogènes du prophage étaient associés à une production plus faible d'oeufs et à un poids corporel plus élevé.

On a terminé une étude sur l'utilisation de cultures de follicules plumaires en vue d'évaluer la résistance de l'hôte aux virus de la leucose et du sarcome. La technique peut servir à déceler les poulets qui sont génétiquement résistants au virus de la leucose aviaire.

On a produit l'antigène viral de la réticulo-endothéliose aviaire ainsi que l'antisérum pour l'épreuve de précipitation en milieu gélifié. D'après les résultats de cette épreuve, les troupeaux de l'Institut de recherches vétérinaires et du Centre de recherches zootechniques étaient exempts du virus.

Chercheurs : J.L. Spencer, F. Gilka, S.S. Chen en collaboration avec J.S. Gavora, J.R. Chambers et R.W. Fairfull, Centre de recherches zootechniques, Agriculture Canada.

8534 Études sur l'étiologie, la pathogenèse, l'épizootiologie et le contrôle de la maladie de Marek

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Améliorer les techniques de cultures cellulaires afin de cultiver le virus de la maladie de Marek et comparer l'évolution de la maladie de Marek à celle des infections par le virus de la leucose lymphoïde.

Réalisations :

On a découvert que le fait de recouvrir des plaques de cultures tissulaires avec du corps vitré augmentait énormément la fixation et la croissance des cellules rénales de poulet. La croissance de ces cellules sur des plaques recouvertes de cette substance était comparable à celle qui se produisait sur des plaques commerciales recouvertes de matrice extracellulaire. Toutefois, l'adhésion des cellules aux plaques recouvertes de matrice extracellulaire était plus forte que dans le cas des plaques ordinaires ou des plaques recouvertes de corps vitré (fondée sur l'absence de desquamation même après des périodes prolongées de culture). Les plaques recouvertes de matrice extracellulaire sont très coûteuses alors que l'obtention de plaques recouvertes de corps vitré est simple et économique; elles peuvent être conservées au moins trois mois à la température du réfrigérateur. L'augmentation de la croissance des cellules rénales de poulet facilite la culture du virus de la maladie de Marek et devrait s'avérer utile pour la culture d'autres virus aviaires.

Étant donné que la réplication du virus de la leucose aviaire dans la bourse de Fabricius était plus marquée dans les macrophages médullaires, on s'est livré à une étude préliminaire au microscope électronique afin d'établir si ces cellules jouaient également un rôle dans la réplication du virus de la maladie de Marek. Aucune particule virale complète n'a été trouvée dans la bourse, mais il semble que le virus de la maladie de Marek SB-1 stimulerait les macrophages médullaires. Cette observation est intéressante puisqu'on a montré que la vaccination avec le SB-1 augmentait la sensibilité des poulets à la leucose aviaire.

Chercheurs : J.L. Spencer, F. Gilka, S.S. Chen en collaboration avec J.S. Gavora et P. Sabour, Centre de recherches zootechniques, Agriculture Canada

8547 Synergie des agents infectieux des maladies respiratoires des bovins

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Lethbridge

Objectifs :
Définir les interactions virales-bactériennes dans les maladies respiratoires des bovins, et mettre au point et expérimenter des techniques de lutte.

Réalisations :

Une troisième expérience a été menée afin d'évaluer un vaccin bactérien contre *P. haemolytica* mis en présence d'un modèle d'infection à *P. haemolytica*-HVB-1. L'expérience a échoué puisque les témoins n'ont pas été atteints de façon étendue. Ces résultats peuvent s'expliquer par une exposition à une quantité insuffisante de virus ou par de grandes variations de température (de l'extérieur vers l'intérieur) quelques jours avant l'expérience. On a par la suite fait entièrement confiance aux inoculums infectieux quand on a assisté à la production d'une affection étendue chez deux veaux avec de nouvelles cultures de HVB-I et de *P. haemolytica*.

Une expérience portant sur l'interaction du virus HVB-I atténué et *P. haemolytica* (85B) a permis de réaliser une étude histologique détaillée de la pneumonie à *P. haemolytica* et d'interpréter sa pathogenèse.

L'analyse statistique portant sur la viabilité de *P. haemolytica* dans l'aérosol à différentes températures et à des taux d'humidité variables est terminée. Il en est ressorti que *P. haemolytica* n'est pas viable dans les 15 premières secondes après la nébulisation (pertinence pour les parcs d'engraissement) à température élevée et à un faible taux d'humidité.

Chercheurs : K.W. Jericho, H.J. Cho, K.G. Loewen, S.P. Gale

8550 Adaptation du test ELISA au sérodiagnostic des maladies infectieuses du bétail

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Lethbridge

Objectifs :
Améliorer des épreuves diagnostiques et les adapter au dépistage et au dosage d'anticorps et d'antigènes de diverses maladies infectieuses du bétail d'importance économique.

Réalisations :

Les chercheurs ont procédé à une adaptation de la méthode de l'épreuve immunoenzymatique (ELISA) pour le dépistage d'anticorps dirigés contre *Brucella ovis* dans le sérum de béliers. La méthode a été appliquée aux échantillons prélevés sur le terrain en vue du diagnostic de l'épididymite à *B. ovis*. Son efficacité a été comparée à celle de la réaction de fixation du complément.

La spécificité de l'antigène de *B. ovis* n'a pas été jugé désirable, tant pour les épreuves de l'ELISA que pour la réaction de fixation du complément.

Chercheurs : H.J. Cho, G.J. Bohac, L. Niilo

8557 Effet pathogène de *Mycoplasma ovipneumoniae* et du virus parainfluenza 3 sur les poumons des ovins; réaction de l'hôte à *Mycoplasma ovipneumoniae* associée à la pathogenèse de la pneumonie chez les moutons

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Sackville

Objectifs :
Déterminer l'effet de *M. ovipneumoniae* sur les poumons des ovins lorsqu'il est administré sept jours après l'infection par le virus PI-3; et déterminer si une exposition antérieure des poumons des ovins à *M. ovipneumoniae* est associée à la pathogenèse de la pneumonie.

Réalisations :

La plupart des agneaux exposés par voie intra-trachéale à *M. ovipneumoniae* sept jours après une infection par le virus PI-3 ont développé des lésions microscopiques de la pneumonie interstitielle proliférative (PIP). Leur taux de lésion moyen était plus élevé que celui des quelques animaux qui présentaient des lésions lorsqu'ils étaient contaminés par un des deux agents pathogènes. L'importance de l'atteinte pulmonaire était inférieure à celle observée dans les cas naturels de la maladie. Les taux de *M. ovipneumoniae* dans les poumons des agneaux exposés antérieurement au virus PI-3 n'étaient que légèrement plus élevés que ceux du groupe d'agneaux exposés seulement à *M. ovipneumoniae*. Cette observation ne correspond pas à ce que l'on a constaté dans le cas d'autres modèles animaux d'infections bactériennes secondaires. On a constaté que le septième jour après l'infection virale était le moment où les animaux étaient le plus sensibles à la multiplication bactérienne à cause d'une dépression maximale des mécanismes de défense des poumons contre les bactéries. D'après les résulats obtenus, il semble qu'une infection virale antérieure ne faciliterait pas la multiplication mycoplasmique comme dans le cas des bactéries à parois cellulaires, mais pourrait favoriser le développement de lésions pneumoniques par un mécanisme différent.

Une exposition antérieure des poumons des ovins à des doses répétées de *M. ovipneumoniae*, tué par des rayons ultra-violets, s'est traduite par une multiplication moins importante de *M. ovipneumoniae* vivant après une exposition par voie intra-trachéale, bien qu'un plus grand nombre d'animaux aient développé des lésions microscopiques de pneumonie interstitielle proliférative.

L'inclusion de tissu pulmonaire homologue dans l'inoculum d'épreuve a empêché le développement d'une PIP chez sept des huit agneaux, malgré que l'on ait laissé 3,6 fois plus de temps pour permettre la multiplication de *M. ovipneumoniae* dans les poumons.

Lorsque l'on administre d'abord des doses de virus PI-3 puis des doses de *M. ovipneumoniae* vivant, la multiplication de *M. ovipneumoniae* dans les poumons est réduite de neuf fois par suite d'une exposition antérieure des poumons des agneaux à des doses répétées d'antigènes mycoplasmiques. Toutefois, une PIP s'est déclarée chez 62 % de ces agneaux comparativement à 25 % dans le groupe qui n'avait pas été exposé antérieurement aux antigènes mycoplasiques. *M. ovipneumoniae* n'avait pas besoin du virus PI-3 pour induire une PIP après une exposition antérieure des poumons aux antigènes mycoplasmiques.

D'après ces résultats, il semble que la réaction de l'hôte à des doses répétées d'antigènes de *M. ovipneumoniae* facilite le développement de lésions de PIP, bien qu'elle limite l'importance de la multiplication de *M. ovipneumoniae* dans les poumons, sans doute à cause d'une réaction immunologique. Cet effet peut être compensé par l'inclusion d'un tissu pulmonaire homologue avec l'organisme administré. Le tableau général porte à croire qu'il s'agit d'un mécanisme d'immunité induit pas les antigènes de *M. ovipneumoniae* contre le tissu pulmonaire.

Chercheurs : J. Lopez, G.G. Finley, C.L. Simard

8559 Études sur la diarrhée virale des bovins

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Lethbridge

Objectif :
Expliquer l'absence d'anticorps neutralisants ou leur non-réactivité dans le sérum de foetus et de veaux contaminés congénitalement afin de mieux comprendre la persistance du virus de la diarrhée virale des bovins (BVDV) (forme "maladie des muqueuses").

Réalisations :

Le virus a été décelé dans les reins, les lymphocytes de la rate et les lymphocytes du sang périphérique chez le foetus. La réponse immunitaire de type humoral du foetus à l'infection non cytopathogène par le BVDV était de la classe des IgM sans spécificité des anticorps anti-BVD. Des anticorps spécifiques anti-BVD n'ont jamais été décelés. On a observé que le virus circulait dans le plasma sous forme de complexe avec les IgM hétérophiles, soit inclus dans des structures membraneuses dérivées de systèmes vacuolaires cytoplasmiques, soit libéré par ces derniers. Morphologiquement, le VBVD non cytopathogène est composé d'une nucléocapside sans enveloppe mais recouvert d'une épaisse couche d'IgM. Le complexe a été séparé en une nucléocapside et en IgM.

On a également réussi à isoler les sous-unités de la membrane virale. L'activité antigénique de ces sous-unités a été étudiée par la technique de l'IDG. Le foetus contaminé élimine le virus par l'urine dans le liquide allantoïdien. Le virus a été isolé dans ce liquide et décelé au microscope électronique. La libération au cours de la mise bas des virus accumulés dans le liquide allantoïdien peut représenter une source importante de diffusion de la diarrhée virale des bovins. Des cultures stationnaires ont été entreprises avec des lymphocytes provenant de la rate de foetus de bovins et on a établi des cultures en couche monocellulaire. Des cellules uniformes similaires à la souche Raji contenaient le virus BVD et des IgM, ces derniers servant à les identifier comme provenant de cellules B. Lorsque ces cellules sont dispersées, elles forment des rosettes EAC. Elles libèrent continuellement des virus BVD dans le milieu. Les cellules sont fortement sensibles à une surinfection par la souche cytopathogène du virus BVD, mais elles tolèrent et internalisent un mélange de BVDV cytopathogène et d'anticorps neutralisants. On a trouvé que l'anticorps antinucléocapside était cytotoxique pour les cellules blastiques. On a réussi à repiquer les cellules et on tente actuellement de les garder en lignée continue.

Chercheurs : G.J. Bohac, H.J. Cho

8560 Infections chez les oiseaux sauvages

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Richmond

Objectif :
Démontrer la présence ou l'absence du virus de la maladie de Newcastle et d'autres agents létaux pour les embryons de poulets chez la sauvagine migratrice et d'autres oiseaux qui peuvent menacer les troupeaux de volaille d'élevage dans le sud-ouest de la Colombie-Britannique.

Réalisations :

Nous avons examiné, en 1986, 942 spécimens aviaires. Les travaux ont porté sur le dépistage des agents létaux pour les embryons de poulets, *Salmonella* sp. et *Campylobacter* sp.

Salmonella parera a été isolé chez 30 moineaux envoyés par le Service canadien de la faune. Les *Salmonella typhimurium* isolés provenaient de bruants (pinsons) importés. Nous n'avons isolé aucun *Campylobacter* durant l'année.

En 1986, les travaux de dépistage de virus aviaires ont permis d'isoler 4 *Chlamydia*, 2 paramyxovirus et un agent hémagglutinant non identifié qui n'était pas pathogène pour les volailles.

Chercheur : A.C. MacNeill

8569 Mise au point d'un vaccin de *Salmonella* non pathogène pour le veau

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie animale à Guelph et Université de Guelph

Objectif :
Mettre au point et l'évaluer un vaccin vivant de *Salmonella typhimurium* non pathogène pour le veau.

Réalisations :

Un plasmide virulent de 60 Md a été identifié chez *Salmonella typhimurium*; il augmente la survie dans les macrophages et la résistance sérique. Étant donné que la destruction par les macrophages est un élément clé de la réponse immunitaire à l'égard des *Salmonella*, ces gènes de virulence plasmidique sont clonés en vue de mieux comprendre leur fonction. L'analyse électrophorétique de la souche *Salmonella typhimurium* 3860C, très pathogène pour le bétail, a montré qu'elle héberge trois espèces de plasmides dont le poids moléculaires est 90, 60 et 3 Md.

Des mutants ont été créés par la technique des transposons, c'est-à-dire par insertion au hasard du transposon *Tn1*(ApR) provenant du plasmide pTH10 ou du transposon *Tn5*(KmR) provenant du plasmide lac F'ts114. Plusieurs mutants isolés ne contenaient que le plasmide de 60 Md. Des études chez la souris ont montré que, chez tous les mutants portant le plasmide 60 Md, la DL_{50} était semblable à celle de la souche mère. Un seul mutant n'a pas été touché par l'activité bactéricide du sérum de cobaye; on a enregistré une sensibilité sérique marquée cependant lorsque le plasmide 60 Md a été transféré chez l'hôte WA 802 d'*E. coli* K-12.

On a constaté que le plasmide 90 Md de la souche 3860C avait un mode de tansfert par conjugaison de type thermosensible, la température optimale de transfert se situant entre 26 et 30°C. Des études effectuées à l'aide des plasmides du groupe d'incompatibilité H (HI1, HI2, HI3) ont montré que le plasmide 90 Md de la souche *Salmonella typhimurium* 3860C appartient au groupe HI2.

Chercheurs : R. Clarke et N. Harnett en collaboration avec C.L. Gyles, Université de Guelph

8589 Uréaplasmose génitale du bétail

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Lethbridge

Objectif :
Acquérir des connaissances plus approfondies sur l'uréaplasmose génitale chez les bovins dans l'Ouest du Canada.

Réalisations :

Six génisses uréaplasme-négatives ont été réparties en deux groupes de trois et isolées. Le premier groupe a été infecté par la souche T-44 au moment de l'insémination, ce qui s'est traduit par un cas d'infertilité, un produit de conception anormal et une gestation normale. Le deuxième

groupe a été infecté par la souche T-288 et les trois animaux ont été stériles; il semble donc que cette souche puisse être considérée pathogène. Seule la génisse dont la gestation a été normale est demeurée exempte d'uréaplasme. Toutes les autres sont devenues positives pour la souche qui a servi à leur contamination. Le groupe exposé à la souche T-288 est devenu positif immédiatement après l'infection, de même que la génisse exposée à la souche T-44 dont le produit de conception était anormal. La génisse stérile exposée à la souche T-44 est devenue positive trois semaines après l'infection. Aucun animal positif n'est devenu négatif au cours de la période à l'étude.

Chercheur : S.P. Gale

8592 Micro-organismes dans le sperme de taureaux

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectifs :
Étudier les effets des micro-organismes du sperme congelé sur la fertilisation et sur le développement de l'embryon et leur capacité de transmettre la maladie; et mettre au point des méthodes d'identification et de numération des micro-organismes dans le sperme.

Réalisations :

La méthode employée dans le cas du premier objectif consiste à développer des modèles de fertilisation *in vitro* et à effectuer des expériences de transmission *in vivo*.

Dans le cadre d'expériences faisant appel à la technique de pénétration de la semence (SPA), à l'*Uréaplasma sp.* et au virus de la rhinotrachéite infectieuse des bovins, aucun effet nocif n'a été observé sur la viabilité ou la mobilité du sperme et il n'y avait aucune différence au niveau des interactions sperme-ovule entre les échantillons témoins traités et non traités. La technique de pénétration de la semence repose sur la capacité de pénétration *in vitro* de la semence de taureau dans des oocytes de hamsters dont on a retiré la zone pellucide.

Dans les expériences de transmission, la souche d'uréaplasme utilisée n'a pas provoqué de modifications pathologiques des voies reproductrices des génisses traitées, ni même interféré avec la fertilisation et le développement des embryons en début de développement. D'après les résultats obtenus avec *Mycoplasma bovis*, il semble que cet organisme puisse influer sur la fertilisation et le développement embryonnaire.

Les données expérimentales incitent à penser que la technique de pénétration de la semence puisse être une technique de vérification de la fertilité en laboratoire.

Les chercheurs ont mis au point une technique de dosage immunoenzymatique pour le dépistage de l'antigène de *M. bovis* dans le sperme de taureaux.

Chercheurs : M.D. Eaglesome, W.C.D. Hare, K. Nielsen, M.M. Garcia, F. Gilka

8596 L'application de micro-techniques à l'étude des maladies infectieuses chez les embryons en début de développement

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Nepean

Objectif :
Déterminer la possibilité d'évaluer l'état de santé d'embryons individuels entiers ou de "parties" d'embryons avant le transfert à l'aide de systèmes d'antigènes hautement sensibles et spécifiques.

Réalisations :

Le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) peut être associé aux blastomères des embryons de bovins en début de développement, sans causer de lésions cytologiques. La mise au point d'une sonde pour le virus IBR chez les embryons en début de développement est donc utile.

Des souches cytopathiques du virus BVD peuvent être associées aux blastomères des embryons de bovins en début de développement sans causer de lésions cytologique; la mise au point d'une sonde pour le virus BVD chez les embryons en début de développement est donc utile.

On a procédé à des études préliminaires sur la cryoconservation d'embryons de souris dont on a retiré la zone pellucide et de demi-embryons de bovins.

On a fait l'acquisition du matériel nécessaire aux différentes techniques associées au clonage moléculaire.

Deux souches de virus IBR (Colorado et LA) et une souche du virus de la vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse de la vache (VVPI) (fournie par le D^r Evermann, État de Washington) du virus herpès bovin-1 ont été obtenues.

Un stock de cellules MDBK a été préparé pour cultiver le virus et on s'est assuré qu'il était exempt de bactéries, de mycoplasmes, de champignons et de levures.

Des stocks des souches Colorado et VVPI du virus herpès bovin-1 ont été préparés en vue de l'extraction de l'ADN et d'une digestion ultérieure par une endonucléase de restriction. Ces stocks ont été vérifiés par immunofluorescence et titrés (1×10^7/ml).

La souche Colorado a été purifiée par gradient de densité afin d'éliminer les contaminants cellulaires de l'ARN et de l'ADN.

Chercheurs : W.C.D. Hare, A. Bielanski, A.M.P. Bouillant, E.L. Singh.

8597 Mortalité néonatale chez les renardeaux

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Sackville

Objectifs :
Déterminer les causes de la mortalité néonatale des renardeaux sur une période de deux ans et réduire ces pertes en formulant des recommandations spécifiques pour changer les méthodes de gestion des élevages en se servant des résultats de l'étude.

Réalisations :

Des nécropsies ont été pratiquées sur 58 renardeaux afin de déterminer la cause de la mort. Le diagnostic le plus fréquent était une dystocie (21); la perte de quinze renardeaux issus de 5 portées a été attribuée à des avortements. Quatorze rejetons avaient souffert d'inanition. Une agénésie rénale congénitale a été enregistrée chez deux petits d'une même portée.

Aucune bactérie pathogène n'a été isolée dans le placenta ou les poumons des foetus de trois portées. On a isolé un nombre faible à modéré de *Streptococcus spp.* jugé significatif chez les foetus d'une portée.

À partir de ces résultats, les dystocies suivies d'avortements et d'inanition étaient responsables de la plupart des pertes de renardeaux.

Chercheurs : C.G. Finley, J. Lopez, C.L. Simard

8611 Transmission d'infections à leptospires par le sperme brut

Lieu de la recherche : Institut de recherches vétérinaires à Lethbridge

Objectif :
Déterminer si le sperme brut d'un taureau qui élimine des *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* dans son urine infectera le bétail vulnérable.

Réalisations :

Du 30 juillet au 15 octobre, des échantillons expérimentaux ont été prélevés chez un taureau et neuf génisses d'expérience exposées à du sperme brut par insémination artificielle (sans contact avec le taureau). On a prélevé des échantillons chez quatre vaches logées avec le taureau au début et à la fin de la période d'essai. Jusqu'à maintenant, les résultats montrent que les deux groupes ont été infectés bien que l'on n'ait pu déceler aucun titre sérologique (à *L. hardjo*) chez les femelles d'un groupe ou de l'autre.

Chercheurs : S.P. Gale, B.F. Kingscote

8614 Immunité cellulaire à l'égard du virus herpès bovin-1

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Saskatoon, Université de la Saskatchewan et Veterinary Infectious Diseases Organization (VIDO)

Objectifs :
Identifier les sites sur les glycoprotéines du virus herpès bovin-1 qui sont reconnues par les cellules T du système immunitaire des bovins. Des réactifs exempts de virus (anticorps anti-idiotypiques ou peptides correspondants) qui ressemblent à ces sites peuvent alors être synthétisés et utilisés dans des épreuves de diagnostic ou comme vaccins.

Réalisations :

On a produit des clones de cellules T de bovins et on étudie leurs exigences en matière de croissance. Différentes expériences sont en cours en vue d'évaluer la spécificité de l'antigène et la fonction de ces clones. De plus, on a immunisé des souris avec des clones de cellules T de bovins afin d'obtenir des anticorps monoclonaux.

Chercheurs : D.L. Hutchings en collaboration avec M.J.P. Lauman, VIDO et L.A. Babiuk, Université de la Saskatchewan

NP2 Relation entre les plasmides et la virulence des salmonelles aviaires

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Guelph et Université de Guelph

Objectif :
Caractériser les mécanismes possibles de stimulation de la virulence par lesquels les plasmides virulents des salmonelles aviaires touchent l'hôte de type aviaire et mammalien.

Réalisations :

On a déterminé les profils plasmidiques, les caractères biochimiques et la résistance aux antibiotiques de 172 souches de *Salmonella* de source aviaire.

La résistance de la sensibilité à l'action bactéricide du sérum de cobaye a été déterminée chez 117 souches qui représentaient tous les profils plasmidiques. On évalue la résistance de souches hautement résistantes au sérum relevées dans le cadre de l'épreuve bactéricide du sérum de cobaye, face à l'activité bactéricide du sérum de poulets.

Des études de virulence ont été effectuées à l'aide de souches choisies en infectant des souris et des poulets par voie orale et intrapéritonéale. La virulence chez les oiseaux et les mammifères-hôtes a été étudiée en fonction de la présence de plasmides spécifiques chez les salmonelles d'origine aviaire. Les plasmides de certaines souches très virulentes ont été marqués et exposés à plusieurs agents qui provoquent la guérison. La virulence des souches guéries et des souches mères a été comparée.

Chercheurs : C. Poppe en collaboration avec C.L. Gyles, Université de Guelph

NP8 Mise au point d'une épreuve immunoenzymatique dans le diagnostic sérologique de Maedi-Visna chez les ovins

Lieu de la recherche : Laboratoire de pathologie vétérinaire à Sackville

Objectif :
Mettre au point une épreuve immunoenzymatique (ELISA) pour le dépistage d'anticorps dirigés contre le Maedi-Visna qui pourrait être plus sensible et plus spécifique que l'épreuve classique de diffusion en gel d'agar (AGDT).

Réalisations :

Des cellules du plexus choroïde des ovins et des cellules de poumons de foetus d'agneaux auxquelles on a inoculé le virus Maedi-Visna ont été fixées à différents moments après l'inoculation et étudiées au microscope électronique. Les deux cultures cellulaires ont produit des particules virales et aucun contaminant n'a été décelé dans les cultures cellulaires infectées ou non. Le titre de l'inoculum a été déterminé au moyen de plaques de microtitrage contenant des cellules du plexus choroïde et des cellules de poumons de foetus d'agneaux prélevées à différents moments après l'inoculation dans des flacons "roulants". Le titre était plus élevé 3 à 4 jours après l'inoculation.

Pour obtenir l'antigène viral de Maedi-Visna qui sera utilisé pour l'épreuve ELISA, le milieu surnageant recueilli et centrifugé a été traité par différente méthodes (concentration au polyéthylène glycol, ultracentrifugation, gradient de sucrose ou chromatographie), puis traité à l'éther.

Chercheur : C. Simard

BREVETS

1. **BOUILLANT AMP, NEILSEN K, RUCKERBAUER GM, SAMAGH BS et HARE WCD.** "Continuous production of viral antigen". Demande de brevet canadien déposée le 2 juin 1986 (no 510-522).

2. **BUNDLE DR, PERRY MB, CHERWONOGRODZKY JW, DUNCAN JR, et CAROFF MG.** "Identification of *Brucella abortus* and brucellosis infection". Brevet émis le 30 septembre 1986 (no 1,212,051).

3. **CHERWONOGRODZKY JW, NIELSEN K, DUNCAN JR, WRIGHT PF, BUNDLE DR, et PERRY MB.** "Immunoassay for discriminating between brucellosis infections and vaccinations". Demande de brevet canadien déposée le 26 septembre 1986 (no 519 243).

PRIX

CORNER, AH (décédé) Prime d'excellence de la Fonction publique du Canada, novembre 1986. Présenté par l'Honorable Robert de Cotret, Président du Conseil du Trésor, en reconnaissance de la contribution du docteur Corner au secteur canadien du Canola.

NOMINATIONS

1. **CHARLTON KM** — co-éditeur du volume sur la rage de la série "Development in Veterinary Virology".

2. **CORNER AH** (décédé) — Membre, Ontario Sheep Research and Services Committee.

3. **EAGLESOME MD** — Membre, Équipe d'évaluation, Conseil canadien de protection des animaux.

4. **HARE WCD** — Président, Ottawa Club of Sigma Xi, The Scientific Research Society.

5. **HARE WCD** — Membre, Import Export Committee, U.S. Animal Health Association.

6. **HARE WCD** — Membre, Embryo Movement Subcommittee, U.S. Animal Health Association.

7. **HARE WCD** — Président, Comité du programme, Colloque — Transport d'embryons: l'échelle internationale, Congrès mondial vétérinaire.

8. **HARE WCD** — Membre, Comité visiteur, Programme Universités Industrie, Conseil de recherche en sciences naturelles et en génie du Canada.

9. **HARE WCD** — Conseiller scientifique, Programme d'aide à la recherche industrielle, Conseil national de recherche.

10. **MCNEIL JD** — Professeur adjoint, Département de toxicologie, Université de Saskatchewan.

11. **MCNEIL JD** — Membre correspondant., Comité exécutif, Analytical Division, Chemical Institute of Canada.

12. **MESSIER S** — Professeur associé, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Montréal.

13. **MESSIER S** — Diplomate, American College of Veterinary Microbiologists.

14. **NIELSEN K.** — Membre, Education Committee, American Association of Veterinary Immunologists.

15. **RANDALL GCB** — Professeur auxiliaire, Université McGill.

16. **RIGBY CE** — Membre, Sub-committee on Taxonomy of the Brucella, International Committee for Systematic Bacteriology.

17. **ROBINSON Y** — Professeur associé, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Montréal.

18. **SINGH EL** — Présidente des programmes, Symposium in Embryos and Disease Transmission, International Embryo Transfer Society 1987 Annual Conference.

19. **SPENCER JL** — Membre, Comité de subventions thématiques, Conseil de recherche en sciences naturelles et en génie du Canada.

20. **SPENCER JL** — Membre, Ontario Poultry Research and Services Committee.

21. **STEMSHORN BW** — Membre, Brucellosis Scientific Advisory Committee, U.S. Animal Health Association.

22. **STOCKDALE PHG** — Membre, Comité des subventions en biologie animale, Conseil de recherche en sciences naturelles et en génie du Canada

23. **STOCKDALE PHG** — comité de révision, Revue canadienne de zoologie.

24. **TURCOTTE C** — Spécialiste en microbiologie vétérinaire, Bureau national des examinateurs, Association canadienne des vétérinaires.

25. **WRIGHT P** — Expert-conseil, OMS/FAO.

26. **YATES WDG** — Professeur adjoint, Département de pathologie, Collège vétérinaire de l'ouest, Université de Saskatchewan.

27. **YATES WDG** — Coordonnateur, Rapport des maladies diagnostiquées au Canada - Revue vétérinaire canadienne.

28. **YATES WDG** — Comité de revision, Revue canadienne de recherche vétérinaire.

PUBLICATIONS

1. **AFSHAR A, BUNDZA A, MYERS DJ, DULAC GC, THOMAS FC.** Sheep pox: Experimental studies with a West African isolate. *Can Vet J* 1986, 27: 301-306.

2. **AFSHAR A, DULAC GC.** Immunoperoxidase plaque staining for the detection of pseudorabies virus. *Can J Vet Res* 1986; 50: 118-119.

3. **AFSHAR A, WRIGHT PF, DULAC GC.** Dot-enzyme immunoassay for visual detection of antibodies to pseudorabies virus in swine sera. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 563-567.

4. **AFSHAR A, MYERS DJ.** Simple and rapid dot-enzyme immunoassay for visual detection of rinderpest antibodies in bovine and caprine sera. *Trop Anim Hlth Prod* 1986; 18: 209-216.

5. **AFSHAR A, WRIGHT PF, DULAC GC.** Development and evaluation of an indirect enzyme immunoassay for detection of porcine IgG antibodies to pseudorabies virus. *Can J Vet Res* 1986; 50: 422-426.

6. **AFSHAR A, THOMAS FC, WRIGHT PF, SHAPIRO JL, SHETTIGARA PT, ANDERSON A.** Comparison of competitive and indirect enzyme-linked immunosorbent assays for development of bluetongue virus antibodies in serum and whole blood. Conference of Research Workers in Animal Diseases, 67th Annual Meeting, Chicago, Ill. 1986; Abstract 118.

7. **BOHAC JG, CHO HJ.** Immunoglobulins, immune complexes and morphology of NCP, BVDV in sera of congenitally infected fetuses. Proc 66th Conf CRWAD, Chicago, November 1985.

8. **BOHAC JG.** BVDV infection in the bovine fetus. Proc 36th Conf Can Laboratory Workers in An Dis., Ottawa, May, 1986.

9. **BOUILLANT AMP.** Parenté des rétrovirus humains lymphotropes et des rétrovirus des grands animaux. *Can Vet J* 1986; 27: 195-203.

10. **BOUILLANT AMP, NIELSEN K, RUCKERBAUER GM, SAMAGH BS, HARE WCD.** The persistent infection of a canine thymus cell line by equine infectious anemia virus and preliminary data on the production of viral antigens. *J. Virol Methods* 1986; 13: 309-321.

11. **BROOKS BW, GARCIA MM, FRASER ADE, LIOR H, STEWARD RB, LAMMERDING AM.** Isolation and characterization of cephalothin-susceptible *Campylobacter coli* from slaughter cattle. *J. Clin Mircobio* 1986; 24: 591-595.

12. **BROOKS BW, ROBERTSON RH, CORNER AH, SAMAGH BS, GARCIA HM, TURCOTTE C, DUNCAN RJ.** Evaluation of the serological reactivity of sheep *Mycobacterium paratuberculosis* by crossed immunoelectrophoreses and immunoblotting. Proceedings of the 3rd Northeast Regional Meeting on Paratuberculosis. Ithaca, N.Y. 1986.

13. **BUNDLE DR, PERRY MB, CHERWONOGRODZKY JW.** The structure and serology of the A and M antigens of *Brucella abortus* and *B. melitensis*. Conference of Research Workers in Animal Disease, Chicago 1986, Abstract 95.

14. **CHARLTON KM, WEBSTER WA, CASEY GA, RHODES AJ, LAWSON KF.** Recent advances in rabies diagnosis and research. *Can Vet J* 1986; 27: 85-89.

15. **CHERWONOGRODZKY JW, BUNDLE DR.** Mouse monoclonal antibodies as substitutes for rabbit monospecific anti-*Brucella* antisera. Canadian Society of Microbiologists, Toronto 1986, abstract VM 3p.

16. **CHERWONOGRODZKY JW, PERRY MB, BUNDLE DR.** Purification of O-chain polysaccharide from *Brucella abortus* 1119-3 and lipopolysaccharide from *B. melitensis* 16 M. Canadian Society of Microbiologists, Toronto 1986, abstract VM1p.

17. **CHERWONOGRODZKY JW, PERRY MB, BUNDLE DR.** The use of monoclonal antibodies for the differentiation of *Brucella abortus* and cross-reacting organisms. Canadian Society of Microbiologists, Toronto, 1986, abstract VM 2p.

18. **CHERWONOGRODZKY JW, PERRY MB, BUNDLE DR.** Purification and charaterization of *Brucella melitensis* 16M lipopolysaccharide. American Society of Microbiology, Washington, D.C., 1986 abstract B186.

19. **CHERWONOGRODZKY JW, PERRY MB, BUNDLE DR.** Characterization of poly-B from *Brucella* and the use of *Brucella abortus* 1119-3 0-chain to differentiate sera of vaccinated of infected cattle. Conference of Research Workers in Animal Disease, Chicago 1986; abstract 96.

20. **CHERWONOGRODZKY JW, WRIGHT PF, NIELSEN K, PERRY MB, BUNDLE DR.** Comparison of four antigens in an enzyme immunoassay (EIA) for detection of bovine brucellosis. Fed Am Soc Expt Biol (abstract) 1986.

21. **CHO JH.** Antibody to scrapie-associated fibril protein identifies a cellular antigen. *J Gen Virol* 1986; 67: 243-253.

22. **CHO HJ, JERICHO KWF.** Induction of immunity against pneumonic pasteurellosis following experimental infection in calves. *Can J Vet Res* 1986; 50: 27-31.

23. **CLARKE RC, GYLES CL.** *Salmonella*. In: Pathogenesis of bacterial infections in animals. C.L. Gyles and C. Thoen eds. Iowa State University Press, 1986: 95-109.

24. **CLARKE RC, GYLES CL.** Galactose epimaraseless mutants of *Salmonella typhimurium* as live vaccines for calves. *Can J Vet Res* 1986: 50: 165-173.

25. **CLARKE RC, GYLES CL, VAN DREUMEL A.** Pathogenesis of acute experimental salmonellosis in calves. IVth Int Sym of World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians June 2-6, 1986. Amsterdam.

26. **DARCEL C LE Q, KALDY MS.** Further evidence for the heterogeneity of serum albumin. *Comp Biochem Physiol.*, 1986; 85: 15-22.

27. **DICK TA, KINGSCOTE B, STRICKLAND MA, DOUGLAS CW.** Sylvatic trichinosis in Ontario, Canada. *J Wildlife Dis*, 1986; 22: 42-47.

28. **DOHOO IR, WRIGHT PF, RUCKERBAUER GM, SAMAGH BS, ROBERTSON FJ, FORBES LB.** A comparaison of five serological tests for bovine brucellosis. *Can J Vet Res* 1986; 50: 485-493.

29. **EAGLESOME MD, GARCIA MM.** The effects of *Mycoplasma bovis* on the preparation of bull spermatozoa into zona-free hamster ova. Proceedings of the 36th Annual Meeting of the Can Soc of Microbiologists, Toronto, 1986.

30. **EAGLESOME MD, GARCIA MM, HARKINS CF, ALEXANDER FCM.** Vaccination studies for the control of campylobcteriosis in Jamaican cattle. *Vet Record* 1986; 119: 299-301.

31. **FINLAY RC, MANN ED, HORNING JL.** Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination in Manitoba swine carcasses. *Can Vet J* 1986; 27: 185-187.

32. **FRASER ADE, RIGBY CE.** Conjugation-mediated genetic exchange in *Brucella abortus*. Canadian Society of Microbiologists 36th Annual Meeting, Toronto, 1986. Abstract VM 3 p.

33. **GARCIA MM, BUNDZA A, KOKOSKIN-NELSON E, BECKER SAWE, BOUFFARD A.** *Fusobacterium necrophorum* in a case of bovine pneumonia. Proceedings of the 36th Annual Meeting of the Can Soc Microbiologists, Toronto, 1986.

34. **GARCIA MM, TRUSCOTT RB, McLAREN J., STEWART RB, KINGSCOTE B, BURCHAK J.** Absence of *Mycoplasma bovis* in unprocessed frozen bull semen from Canadian Artificial Insemination Centres; *Vet Record* 1986; 119: 11-12.

35. **GAVORA JS, SIMONSEN M, SPENCER JL, FAIRFULL RW, GOWE RS.** Changes in the frequency of major histocompatibility haplotypes in chickens under selection for both high egg production and resistance to Marek's disease. *J Animal Breedg Genet* 1986; 103: 218-226.

36. **HARE WCD.** BVD virus infection and embryo transfer. *Vet Rec* 1986; 118:544.

37. **HENNING MD, NIELSEN KH.** Peroxidase labelled monoclonal antibody for use in enzyme immunoassay. Conf Res Workers Animal Dis., Chicago, 1986 (Abstract).

38. **JERICHO KWF.** Pathogenesis of *Mycoplasma pneumonia* of swine. Letter to the Editor, *Can J Comp Med.* 1986; 50: 136-137.

39. **JERICHO KWF, LEJEUNE A, TIFFIN GB.** Bovine herpesvirus-1 and *Pasteurella haemolytica* aerobiology in experimentally infected cattle. *Am J Vet Res* 1986; 47: 205-209.

40. **KINGSCOTE BF.** Leptospirosis in red foxes in Ontario. *J Wildlife Dis* 1986; 22: 475-478.

41. **KINGSCOTE BF.** Leptospirosis outbreak in a piggery in Southern Alberta. *Can Vet J* 1986; 27: 188-190.

42. **KINGSCOTE BF.** Leptospirosis: An occupational hazard to veterinarians. *Can Vet J* 1986; 27: 78-81.

43. **KINGSCOTE BF, BOHAC JG.** Antibodies to bovine bacterial and viral pathogens in pronghorns in Alberta, 1983. *J Wildlife Dis* 1986; 22: 511-514.

44. **MacNEIL JD, HIKICHI M.** Phosmet residues in an orchard and adjacent recreational area. *J Environ Sci Health* 1986; B21: 375-385.

45. **McVICAR JW, SINGH EL, MEBUS CA, HARE WCD.** Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. VIII. Failure to detect foot-and-mouth disease viral infectivity associated with embryos collected from infected donor cattle. *Theriogenology* 1986; 26: 995-601.

46. **MANN ED, SEKLA LH.** Cryptosporidiosis in Manitoba. *Can Med Ass J* 1986; 135:1072.

47. **MANN ED, SEKLA LH, NAYAR GPS, KOSCHIK C.** Infection with *Cryptosporidium spp.* in humans and cattle in Manitoba. *Can J Vet Res* 1986; 50: 174-178.

48. **MARTIN SW, BOHAC JG.** The association between serological titers in infectious bovine rhinotracheitis, bovine virus diarrhea virus, parainfluenza-3 virus, respiratory syncytial virus and treatment for respiratory disease in Ontario feedlot calves. *Can J Vet Res* 1986; 50: 351-358.

49. **NIELSEN KH, STEWART RB, GARCIA MM, EAGLESOME MD.** Enzyme immunoassay for detection of *Mycoplasma bovis* in bovine semen. Can Soc Microbiol Ann. Meet., Toronto, 1986. (Abstract).

50. **NIELSEN KH, DUNCAN JR.** Bovine IgM does not fix complement. Int Vet Immunol Symp Guelph, 1986. (Abstract).

51. **NIELSEN KH, WRIGHT PF, KELLY W, SUGDEN E, GALL D, DUNCAN JR.** Enzyme immonassay (EIA) standardization for large scale diagnostic serology – an approach. Int Vet Immunol Simp., Guelph, 1986 (Abstract).

52. **NIELSEN KH, TURCOTTE C, SAMAGH BS, SUGDEN E, CORNER AH, DUNCAN JR.** LAM – EIA for paratuberculosis. Int Vet Immunol symp., Guelph, 1986 (Abstract).

53. **NIELSEN KH.** A method for preparation of IgA from bovine mammary secretions. Fed Am Soc Exptl Biol., St. Louis, 1986 (Abstract).

54. **NIELSEN KH, DUNCAN JR.** Does bovine IgM fix guinea pig complement? 36th Conf Can Res Workers Animal Dis., Nepean, 1986 (Abstract).

55. **NIELSEN KH, HENNING D, DUNCAN JR.** Use of monoclonal antibodies in paratuberculosis serodiagnosis. 3rd NE Reg Meet Paratuberculosis, Ithaca, 1986 (Abstract).

56. **NIELSEN KH, CHERWONOGRODZKY J, DUNCAN JR.** An enzyme immunoassay for the differentiation of the antibody response of cattle vaccinated of infected with *Brucella abortus*. Conf Res Workers Animal Dis., Chicago, 1986. (Abstract).

57. **NIELSEN K.** Preparation of IgA from bovine mammary secretions. *Can J Vet Res* 1986; 50: 227-231.

58. **NIELSEN KH, WRIGHT PF, KELLY W, CHERWONOGRODZKY J.** *Brucella spp.* In: Methods of Enzymatic analysis (HU Bergmeyer, ed.) Verlag Chemie, Weinheim, 1986; Vol.11, pp 152-160.

59. **NIELSEN KH, HENNING MD, DUNCAN JR.** Monoclonal antibodies in veterinary medicine. Biotech Genet Eng Rev (GE Russell ed.) Intercept Ltd., Newcastle upon Tyne. 1986; Vol. 4, pp 311-353.

60. **NIILO L, MCDONALD DW, GODKIN GF, STONE MW.** Ovine brucellosis in Alberta. *Can Vet J* 1986; 27: 245-249.

61. **NIILO L.** Experimental production of hemorrhagic enterotoxemia by *Clostridium perfringens* Type C in maturing lambs. *Can J Comp Med*, 1986: 50: 32-35.

62. **PERRY MB, BUNDLE DR, CHERWONOGRODSKY JW.** The structure and serology of the A and M antigens of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* and the structure of polysaccharide B of *Brucella* species. The 14th International Congress on Microbiology, Manchester, England, 1986; abstract P67-4.

63. **PRINS L, YATES WDG.** Rabies in western Canada 1978-1984. *Can Vet J* 1986; 27: 164-169.

64. **RANDALL GCB.** Physiology of late pregnancy and parturition in swine. In: Current Therapy in Theriogenology 2, Ed., D.A. Morrow, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986.

65. **RANDALL GCB.** Chronic implantation of catheters and other surgical techniques infetal pigs in Swine. In: B.S. Medical Research, Ed. M.E. Tumbleson, Vol. II, pp. 1179-1186, Plenum Publishing, New York, 1986.

66. **RANDALL GCB, TAVERNE MAM, CHALLIS JRG, KENDALL JZ, TSANG BK.** Interrelationships between endocrine changes in peripheral and uterine venous blood and uterine activity at parturition in the pig. *Anim Reprod Sci* 1986; II, 283-294.

67. **RANDALL GCB, TSANG BK.** Influence of the fetal pituitary adrenal axis on fetal and maternal progesterone and unconjugated oestrogen concentrations in the pig. *J Reprod Fertil* 1986; 78: 65-72, 1986.

68. **RIGBY CE, FRASER ADE.** Introduction, maintenance and transfer of broad-host-range plasmids in *Brucella abortus*. 67th Annual Meeting of the Conference of Research Workers in Animal Diseases, Chicago, 1986. Abstract 1.

69. **SINGH EL, McVICAR JW, HARE WCD, MEBUS CA.** Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. VII. The *in-vitro* exposure of bovine and porcine embryos to foot-and-mouth disease virus. *Theriogenology* 1986; 26: 587-593.

70. **SINGH EL.** Possibilities of disease transmission via embryos. Proceedings of the 5th Annual Convention of the American Embryo Transfer Association 1986; pp 55-61.

71. **SMITH HJ.** Transmission of *Sarcoptes scabiei* in swine by fomites. *Can Vet J* 1986; 27: 252-254.

72. **SMITH HJ.** Field Manual for the investigation and diagnosis of exotic protozoan diseases and anaplasmosis in Canada, 1986.

73. **TESSARO SV, FORBES LB.** *Brucella suis* biotype 4: A case of granulomatous nephritis in a barren ground caribou (*Rangifer tarandus groenlandicus* L.) with a review of the distribution of ranfigerine brucellosis in Canada. *J Wildl Dis* 1986; 22: 479-483.

74. **THIERMANN AB, HANDSAKER AL, FOLEY AW, WHITE FH, KINGSCOTE BF.** Reclassification of North American leptospiral isolates belonging to serogroups mini and sejroe by restriction endonuclease analysis. *Am J Vet Res.* 1986; 47: 61-68.

75. **THOMAS FC, RANDALL GCB, MYERS DJ.** Attempts to establish congenital bluetongue virus infections in calves. *Can J Vet Res* 1986; 50, 280-281.

76. **TOLSON N, CHARLTON K, WIKTOR T.** Immune response to a vaccinia virus recombinant expressing the rabies virus glycoprotein. Vth – International Conference on Comparative Virology, Lake Louise, Alberta, Can., 1986 (Abstract).

77. **SUGDEN EA, SAMAGH BS, BUNDLE DR, DUNCAN JR.** Phenol-water extracted lipoarabinomannan and arabinomannan antigens from *Mycobacterium paratuberculosis*. American Soc of Micro, 86th Annual Meeting, Washington, D.C. p.119, 1986.

78. **SUGDEN EA, SAMAGH BS, CORNER AH, TURCOTTE C, BROOKS BW, STEWART RB, DUNCAN JR.** Serodiagnosis of ovine paratuberculosis using lipoarabinomannan antigen in an enzyme immunoassay. Proc. of IVth Int'l Conf of Vet Lab Diag, Amsterdam, The Netherlands, 1986.

79. **SHEPPARD JW, WRIGHT PF, deSAVIGNY DH.** Methods for evaluation of EIA tests for use in detection of seedborne pathogens. *Seed Sci. Technol.* 1986: 14:49-59.

80. **WEBSTER WA, CASEY GA, CHARLTON KM.** Major antigenic groups of rabies virus in Canada determined by anti-nucleocapsid monoclonal antibodies. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 1986; 9: 59-69.

81. **WRIGHT PF, NIELSEN KH.** Application of enzyme immunoassay in veterinary medicine. In: Non-isotopic Immunoassay, T.T. Ngo ed., Plenum Publishing Corp., New York, N.Y. (in press).

82. **WRIGHT PF, NIELSEN N.** Comparison of monoclonal (Mc) and polyclonal (Pc) antiglobulins in an enzyme immunoassay (EIA) for detection of bovine brucellosis. Fed Am Soc Expt Biol (abstract) 1986.

83. **WRIGHT PF, CALL DEJ, KELLY WA.** Quantitative data expression of bovine anti-*Brucella* antibody activity in the indirect enzyme immunoassay (EIA) 1st Int Vet Immunol Symp 1986 (Abstract).

84. **WRIGHT PF, NIELSEN K.** Comparison of polyclonal and monoclonal antiglobulins in the indirect enzyme immunoassay (EIA) for diagnosis of bovine brucellosis. 1st Int Vet Immunol Symp 1986 (Abstract).

85. **WRIGHT PF, GALL DEJ, KELLY WA.** Quantitative expression of anti-*Brucella* antibody activity in the enzyme immunoassay. 39th Annual Brucellosis Research Conf. 1986 (Abstract).

EPREUVES DISPONIBLES

Maladie/Microorganisme	*Épreuve*	SACKVILLE	ST-HYACINTHE	NEPEAN	GUELPH	WINNIPEG	SASKATOON	LETHBRIDGE	RICHMOND
Anaplasmose	FC			x					
Anémie infectieuse équine	IDG	x		x	x	x		x	x
Anthrax	Culture			x				x	x
	Histologie			x					
Artérite équine	FC			x					
	SN			x					
Arthrite-encéphalite caprine	IDG	x							
Avortement enzootique du mouton	Frottis	x							x
Bacillus cereus	Culture		x		x	x			x
Bluetongue	FC			x				x	
	IDG			x				x	x
	Isolation			x					
	ME			x					
	NP			x					
	SN			x					
Bronchite infectieuse	SN	x		x					
	IHA	x							
Brucellose	Biotypage			x			x		
	BPAT	x	x	x	x	x	x	x	x
	BRT	x	x	x	x	x	x	x	x
	Culture			x			x	x	x
	ELISA	x	x	x	x	x	x	x	x
	FC			x			x	x	
	Histologie			x					
	Nécropsie			x					
	SPAT			x	x	x	x		x
	STAT	x	x	x	x	x	x	x	x
Campylobacter	AF	x	x	x	x			x	x
	AMV			x				x	x
	Culture	x	x	x	x	x		x	x
Chlamydiose	FC			x					
	Frottis	x		x					x
	Histologie			x					
	Isolation	x		x					
	Necropsie			x					x
Clostridium perfringens	AF							x	
	Culture	x	x		x	x			x
Coronavirus	AF	x							
Cysticercose	Histologie	x		x					
	Parasitologie	x							

		SACKVILLE	ST-HYACINTHE	NEPEAN	GUELPH	WINNIPEG	SASKATOON	LETHBRIDGE	RICHMOND
Diarrhée virale des bovins	AF	x		x				x	
	Isolation	x		x				x	
	SN	x		x				x	
Dourine	FC			x					
Escherichia coli 0157:H7	Culture		x		x				
Encéphalomyélite aviaire	AF	x							
	IDG	x							
Encéphalomyélite équine	FC			x					
	Isolation			x					
Épérythrozoonose	IHA			x					
Fièvre Q	FC			x					
Fièvre typhoide du cheval	Agg tube			x					
Gale	Identification	x				x		x	x
Gastroentérite transmissible	AF	x							
	Isolation			x					
	SN	x		x				x	
Hemophilus hyopneumoniae	FC			x					
Influenza aviaire	Histologie			x					
	IDG			x					
	IHA			x					
	Isolation			x					
	Nécropsie			x					
Laryngotrachéite infectueuse	AF	x							
	Isolation								x
	SN	x							
Influenza des équins	IHA	x							
Influenza du porc	IHA			x					
	Isolation			x					
Leptospirose	AF							x	
	AMV			x				x	
	Culture			x				x	
Leucose bovine	IDG			x				x	
Maedi-Visna	IDG	x							
Maladie de Gumboro	IDG	x							
	SN	x							

		SACKVILLE	ST-HYACINTHE	NEPEAN	GUELPH	WINNIPEG	SASKATOON	LETHBRIDGE	RICHMOND
Maladie hémorrhagique épizootique	FC			x					
	IDG			x					
	Isolation			x					
	ME			x					
	NP			x					
	SN			x					
Maladie de Newcastle	Histologie			x					
	IHA	x		x					x
	Isolation	x		x					x
	Nécropsie			x					
Maladie de Teschen	SN			x					
Maladies vésiculeuses	FC			x					
	Histologie			x					
	Isolation			x					
	ME			x					
	SN			x					
Mammite	Culture			x					
Métrite contagieuse équine	Culture			x					x
	FC			x					
Morve	Culture			x					
	FC			x					
Mycoplasma/Ureaplasma	Agg			x					
	Culture	x		x				x	
	FC			x					
Paratuberculose	Culture			x					
	FC			x				x	
	Frottis								x
	Histologie			x					
	IDG			x					
Parvovirus du porc	FA	x							
	IHA	x		x					
	Isolation			x					
Peste aviaire	Histologie			x					
	IDG			x					
	IHA			x					
	Isolation			x					x
	Nécropsie			x					
Peste porcine africaine	AF			x					
	AFI			x					
	IDG			x					
	IEC			x					

		SACKVILLE	ST-HYACINTHE	NEPEAN	GUELPH	WINNIPEG	SASKATOON	LETHBRIDGE	RICHMOND
Peste porcine classique	AF			x					
	AFI			x					
	FC			x					
	Histologie			x					
	Isolation			x					
	SN			x					
Piroplasmose	FC			x					
Pseudorage	AF			x					
	ELISA			x			x		
	Histologie			x					
	Isolation			x					
	SN			x					
Pullorose/typhoïde	Agg tube								x
	Culture					x			x
Rage	AF			x				x	
	CT			x					
	Histologie			x					
	MIT							x	
	Nécropsie			x					
Réovirus aviaire	IDG	x							
Rhinopneumonite équine	SN			x					
Rhinotrachéite infectieuse bovine	AF	x		x					
	ELISA							x	
	Isolation	x		x				x	
	SN	x		x				x	
Rotavirus	AF	x							
Salmonella	Culture	x	x	x	x	x			x
	Sérotypage					x			
Staphylococcus aureus	Enterotoxine				x				
Streptococcus sp.	Groupage de Lancefield				x				
Toxoplasmose	FC			x					
Tremblante	Histologie			x				x	
Trichinose	Digestion	x							x
	ELISA	x							
	Histologie	x							x
Trichomonas	Culture	x	x	x	x			x	x
	Examen microscopique							x	
Tuberculose	Culture			x					
	Frottis	x		x					x
	Histologie			x				x	

		SACKVILLE	ST-HYACINTHE	NEPEAN	GUELPH	WINNIPEG	SASKATOON	LETHBRIDGE	RICHMOND
Virus hémagglutinant de l'encéphalomyélite du porc	IHA	x		x					
	SN			x					
Virus parainfluenza-3	AF	x							
	HA							x	
	IHA	x		x				x	
Virus respiratoire syncytial	FC							x	
	Isolation							x	
	SN							x	
Divers	Activité de l'eau dans les produits carnés				x				
	Agents létaux d'embryon de poulet								x
	Culture	x		x				x	x
	Culture-Hygiène des couvoirs					x			x
	Histologie	x		x			x	x	
	Isolation de virus	x		x					
	ME			x					
	Nécropsie	x		x			x		
	Parasitologie	x						x	x
	Profils bactériens sur les produits carnés	x	x		x	x			x
	Vérification d'espèces des produits carnés			x	x				x

Les épreuves pour l'identification des résidues dans les produits carnés sont effectués au laboratoire de Saskatoon uniquement.

Résidues	Épreuves	Résidues	Épreuves
Acétate de mélengestrol	GC	Nitrofurans	HPLC
Antibiotiques	TLC/BA	PCP, BPC	GC
Carbadox	GC	Pesticides	GC
Chloramphénicol	GC	Sulfa	TLC, GC, MS
Clopidol	GC	Tétracyclines	HPLC
Ivermectin	HPLC	Zéranol	HPLC, GC, MS
Métaux lourds	AA		

LISTE D'ABRÉVIATION DES ÉPREUVES DIAGNOSTIQUES

AA	Absorption atomique
AF	Anticorps fluorescent
AFI	Anticorps fluorescent indirect
Agg	Agglutination
AMV	Agglutination du mucus vaginal
BAPT	Buffered antigen plate agglutination Test (épreuve avec antigène acidifié)
BRT	Brucellosis milk ring test (épreuve en anneau)
CT	Culture tissulaire
ELISA	Enzyme immunoassay (épreuve immunoenzymatique)
FC	Fixation du complément
GC	Gas chromatography (chromatographie en phase gazeuse)
HA	Hémagglutination
HAI	Hémagglutination indirecte
HPLC	High performance liquid chromatography (chromatographie en phase liquide)
IDG	Immunodiffusion en gélose
IEC	Immunoélectrophorèse à contre-courant
IHA	Inhibition de l'hémagglutination
MA	Microagglutination
ME	Microscopie électronique
MIT	Mouse inoculation test (test d'inoculation de la souris)
MS	Mass spectrophotometry (Spectrophotométrie de masse)
NP	Neutralisation de plaque
RIA	Radio-immuno assay (épreuve immuno-radiologique)
SN	Séroneutralisation
SPAT	Sérum plate agglutination test (épreuve rapide d'agglutination sur plaque)
STAT	Standard tube agglutination test (épreuve lente d'agglutination en tube)
TLC	Thin layer chromatography (chromatographie sur couche mince)
TLC/BA	Thin layer chromatography/ Bioauthography (chromatographie sur couche mince/ Bioautographie)